

Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Química de Minas
Gerais – PPGMQ-MG
Universidade Federal De Itajubá – UNIFEI

Análise computacional da relação estrutura-atividade de novos compostos
com potencial ação antileishmania.

Vinícius Bonatto

Itajubá

2019

Vinícius Bonatto

Análise computacional da relação estrutura-atividade de novos compostos
com potencial ação antileishmania.

Dissertação apresentada ao Programa
de Pós-Graduação Multicêntrico em Química
de Minas Gerais como requisito parcial para a
obtenção do grau de Mestre em Química.

Orientadora: Juliana Fedoce Lopes

Itajubá
2019

Agradecimentos

Primeiramente gostaria de agradecer aos meus pais Ana e João, por todo o apoio que sempre me deram e sem eles nada do que conquistei seria possível.

À toda minha família.

À professora e mamãe científica Juliana, por toda orientação, conversas, pela paciência, compreensão, por todos os ensinamentos para pesquisa e para vida e também por ter sido a pessoa mais importante durante toda minha formação.

Ao Fred pelas conversas, ensinamentos, por todos os momentos de desconcentração e pelas cervejas que tomamos durante esse tempo.

À família LaQC que se tornaram tão especial durante todos esses anos em Itajubá, deixando um ambiente agradável para trabalhar. Um agradecimento especial ao Chuman, Pudim, Matosa, Bruna e também a agregada Larissa, por ajudarem tanto na pesquisa quanto nas coisas da vida.

A todos os moradores da Rep X deixando todos esses anos em Itajubá os melhores possíveis, com todas as conversas, churrascos, festas e bebedeiras.

À Simoni por cuidar de mim durante quase todo o tempo que morei em Itajubá, sendo uma segunda mãe.

À Iza, Amador e Gori pelos roles mais aleatórios possíveis e por toda parceria.

Aos órgãos de fomentos CAPES, FAPEMIG e CNPq.

Sumário

Resumo	i
Abstract	ii
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Introdução Sobre as Leishmanioses	2
1.2. Breve Histórico e as Formas Clínicas da Leishmaniose	3
1.3. Tratamento da Leishmaniose	5
1.3.1. Fármacos Utilizados para o Tratamento	6
1.3.2. Fármacos Alternativos	6
1.4. Química Computacional e Leishmaniose	9
2. OBJETIVOS	13
2.1 Objetivo Geral	14
2.2 Objetivos Específicos	14
3. FUNDAMENTOS TEÓRICOS E METODOLOGIA DE EXECUÇÃO	15
3.1 Método de Hartree-Fock.....	17
3.2 Teoria do Funcional de Densidade – DFT	18
3.3 Teoria de perturbação de Møller-Plesset	19
3.4 Modelos contínuos de solvatação	22
3.4.1. <i>Solvation Model Density</i> (SMD)	24
3.5 Estudo teórico de análise conformacional.....	24
3.6 Análise da população conformacional.....	26
3.7 Metodologia de Execução	28
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES	33
4.1 Análise da série MSO	34
4.2 Análise da série MSP	55
4.3 Determinação da atividade biológica teórica para as moléculas em estudo ..	75
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	79
REFERÊNCIAS	83
APÊNDICE	93
Participações em eventos científicos	94

Resumo

Neste trabalho, foi realizado o estudo computacional de novos possíveis fármacos com potencial ação antileishmania, as moléculas da série MSO e MSP, sendo de muita importância, uma vez que as leishmanioses são doenças negligenciadas e ainda não existe um tratamento efetivo para ela, além do mais os investimentos para estes tipos de doenças são muito baixos. Neste estudo foram feitos cálculos utilizando a teoria do funcional da densidade com função de base do tipo 6-31G(d,p) e o funcional M06-2X. Inicialmente, após obtenção da estrutura mais estável para as moléculas em estudo, foram obtidas diversas conformações para cada uma das moléculas, a partir da rotação de ângulos diedros presentes nestas, sendo possível analisar esses conformeros a partir da superfície de energia potencial gerada neste cálculo e fazer a análise populacional destes. Para se obter as cargas das moléculas e ser possível analisar os orbitais moleculares, passou a se utilizar o nível de cálculo MP2. Os orbitais moleculares de fronteira, HOMO e LUMO, para as conformações mais estáveis também foram analisados, e apesar das moléculas serem parecidas estruturalmente, em alguns casos apresentam diferenças notáveis em relação as regiões de densidade eletrônica, inclusive para moléculas que são isoeletrônicas, podendo influenciar na atividade biológica, uma vez que isto pode mudar as interações com determinados alvos. Em relação aos mapas de potencial eletrostático, nota-se também uma diferença entre as moléculas de mesma série, isto porque as interações intramoleculares são diferentes, uma vez que, a rotação da ligação simples entre o anel tetraidropirimidina e o anel pirazólico variam entre as moléculas. Obteve-se também diversos parâmetros químicos que se somados e analisados com outras propriedades químicas podem ser utilizados como modelos preditivos de atividade biológica. E a partir destes parâmetros obtidos e baseando-se em relações de estrutura-atividade quantitativas (QSAR) obteve-se uma equação para determinar o valor de determinada propriedade biológica, sendo que as moléculas MSO04 e MSP13, apresentaram os melhores resultados para suas respectivas séries. Por fim, determinou-se também os valores do coeficiente de partição (LogP) para as moléculas em estudo, obtendo resultados que são considerados ótimos de acordo com a literatura. *Palavras chave: Leishmaniose, Análise Conformacional, IC₅₀ Teórico.*

Abstract

In this work, a computational study of new possible drugs with potential action antileishmania was carried out. Molecules of the series MSO and MSP, being of great importance, since the leishmaniasis are neglected diseases and there is no effect treatment for it yet, furthermore the resources to research about this kind of diseases are very low. In this study, calculations were made using the density functional theory with basis set 6-31G(d,p) and the M06-2X functional. Firstly, after obtaining the most stable structure for the molecules in study, were obtained several conformations for each molecule, from the rotation of dihedral angles present in there, being possible to analyze these conformers from the potential energy surface generated in this calculation and to make the population analysis of these. Then to obtain the charges of the molecules and being possible to analyze the molecular orbitals, started to be used the level of calculation MP2. The frontier molecular orbitals, HOMO and LUMO, for the most stable conformation were also analyzed, and although the molecules are structurally similar, in some cases it present remarkable differences in relation to the regions of electronic density, including molecules that are isoelectronic, and may influence biological activity, since this may change the interactions with certain targets. In relation to the electrostatic potentials maps, also can note a difference between the molecules of the same series, because the intramolecular interactions are different, since the rotation of the single bond between the tetrahydropyrimidine ring and the pyrazole ring varies in the molecules. Several chemical parameters were also obtained which, if added and analyzed with other chemical properties, can be used as predictive models of biological activity. From these parameters obtained and based on quantitative structure-activity relationships (QSAR), an equation was obtained to determine the value of a specific biological property, and the molecules MSO04 and MSP13 presented the best results for their respective series. Finally, the values of the partition coefficient (LogP) were determined for the molecules under study, obtaining results that are considered optimal according to the literature. *Keywords: Leishmaniasis, Conformational Analysis, Theoretical IC₅₀.*

1. CAPÍTULO 1
INTRODUÇÃO

1.1. Introdução Sobre as Leishmanioses

As leishmanioses são um conjunto de doenças causadas por protozoários possuindo diversas espécies de parasita, reservatórios e vetores. A enfermidade é considerada como doença endêmica em 98 países, principalmente naqueles em desenvolvimento, registrando mais de um milhão de novos casos por ano. Atualmente cerca de 1 bilhão de pessoas estão em área de risco de contrair algum tipo de Leishmaniose^{1,2}

Os parasitas do gênero *Leishmania* são transmitidos para os reservatórios pelos insetos dos gêneros *Phlebotomus* e *Lutzomyia*³. O mosquito-palha (*Lutzomyia*) por exemplo, que possui o parasita da *Leishmania* ingere uma refeição de sangue do ser humano ou outro mamífero, infectando então o reservatório^{1,4}, como representado na Figura 1, na primeira etapa.

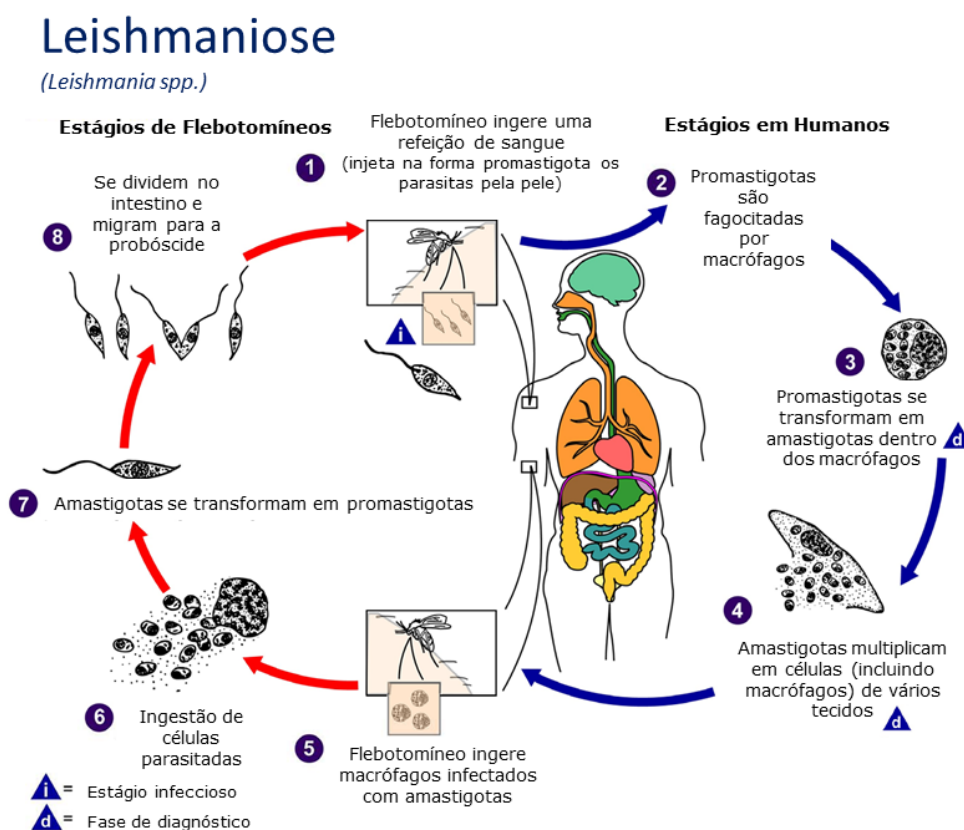


Figura 1: Esquema do ciclo de vida dos parasitas da *Leishmania* em humanos. Adaptado de CDC-DPDx⁵.

Após o contágio das células parasitas no mamífero na forma de promastigotas, estas serão fagocitadas por macrófagos, logo as mesmas são transformadas em amastigotas, que se multiplicam em células de vários tecidos, se espalhando pelo corpo do mamífero. A próxima etapa do ciclo (5) volta para os

estágios de flebotomíneos, em que o mosquito-palha toma outra refeição de sangue do mamífero, porém neste caso o reservatório estará contaminado, uma vez que são ingeridas células parasitadas. No intestino as amastigotas serão transformadas na forma promastigota, por fim estas se dividem ainda no intestino e migram até o probóscide e então o ciclo começa novamente quando a fêmea do mosquito-palha ingere outra refeição de sangue do mamífero infectando-o^{1,4-8}.

1.2. Breve Histórico e as Formas Clínicas da Leishmaniose

Os primeiros a reconhecerem as leishmanioses, caracterizando-a como uma nova doença foram William Leishman e Charles Donovan, de forma independente, em 1903. estes identificaram os parasitas *Leishmania donovani*^{1,9}, que viriam a receber este nome mais tarde¹⁰, homenageando seus descobridores. Os parasitas *Leishmania donovani* foram descobertos a partir de amostras de baços de pacientes com a doença Calazar, que era muitas vezes confundida com os sintomas da malária, mas na verdade são responsáveis por causar manifestação clínica das leishmanioses na forma visceral^{1,11}, tanto é que esta forma da leishmaniose ainda recebe este nome.

Em 1911 o brasileiro Gaspar Vianna foi o responsável por reportar as leishmanioses na América do Sul, estas eram causadas por uma espécie diferente de *Leishmania* até então conhecidas, ou seja, diferente daquelas do Velho Mundo. A caracterização de Vianna foi nomeada como *Leishmania braziliensis*, porém este nome só foi dado alguns anos mais tarde^{1,9,12}.

No decorrer dos anos foram sendo descobertas novas espécies de *Leishmania* no Novo mundo, como por exemplo a *L. amazonensis* em 1972¹³, uma espécie comumente encontrada no Brasil e alguns países da América Latina.

Atualmente existem mais de 20 espécies de *Leishmania* que são reportados por causar infecções em humanos¹, que se manifestam clinicamente na forma cutânea, mucocutânea e visceral/calazar¹⁴. No Brasil as espécies responsáveis pela maioria dos casos são *Leishmania amazonensis* e a *Leishmania braziliensis*¹⁵. A *Leishmania amazonensis* manifesta-se clinicamente na forma cutânea. Já a espécie *Leishmania braziliensis* apresenta-se ainda na forma mucocutânea.

A leishmaniose cutânea (LC) é a manifestação clínica mais comum¹⁶, podendo evoluir para leishmaniose cutânea difusa (LCD)¹⁷, provocando diversas lesões no corpo do mamífero. Geralmente as lesões ocasionadas pela LC se curam espontaneamente, por isso são conhecidas como lesões “*self-healing*”, entretanto,

sem tratamento, as lesões podem demorar cerca de um ano para desaparecer, e, mesmo que seja tratada, cicatrizes permanentes podem ocorrer¹⁸⁻²⁰. Já a LCD pode permanecer por toda a vida do hospedeiro e ao invés de manifestar como úlceras no corpo, ela aparece como pápulas, produzindo nódulos cutâneos na face e extremidades²¹.

A leishmaniose mucocutânea (LMC), pode se manifestar como na forma cutânea, podendo aparecer em mamíferos que tiveram LC até 5 anos após a cura, mas neste caso, as lesões acabam destruindo parcialmente ou totalmente as membranas mucosas de forma lenta e progressiva^{18,19,22}. Em humanos, a destruição ocorre nas cavidades nasais, orais e da garganta se estendo aos tecidos próximos, causando danos irreversíveis, devido as mutilações nas faces das pessoas. Portanto, devido a esses ferimentos graves, para a LMC as lesões não se curam espontaneamente como acontece para a LC²³.

Como último tipo de leishmaniose abordado, a leishmaniose visceral (LV), conhecida também como Calazar, é geralmente confundida com outras doenças febris, podendo levar a um diagnóstico errôneo da doença, acarretando no atraso no início do tratamento e assim levando o paciente a óbito²⁴. Os sintomas variam desde fraqueza e perda de peso até linfadenopatia e anemia^{18,19,23}. A LV, se não tratada, tem uma taxa de mortalidade de quase 100% em países em desenvolvimento²⁵.

Uma complicação causada pela LV é uma seqüela dérmica que geralmente se manifesta após o tratamento desta, conhecida como leishmaniose dérmica pós calazar (LDPC). Essa complicação se desenvolve em pacientes junto com a LV ou, como reportado na maioria dos casos, aparece após o tratamento da LV^{25,26}. Seus sintomas começam com pequenas lesões maculares, papulares ou nodulares, geralmente na face e se espalhando para o torso, extremidades, nariz e costas. Estas lesões vão aumentando de tamanho gradativamente^{27,28}, sendo o tratamento da LDPC longo e muito caro²⁸.

Outro problema característico da leishmaniose visceral é a coinfeção com o vírus da imunodeficiência humana (HIV). Neste caso, ocorre uma potencialização mútua, ocasionando no pior dos casos para ambos, uma vez que a Leishmania promove a replicação do HIV e a infecção pelo HIV dificulta os macrófagos de eliminar os parasitas²⁹⁻³¹. Os sintomas desta coinfeção podem variar dependendo da região geográfica em que o paciente se encontra. Na América Latina, por exemplo, os sintomas acabam envolvendo o trato gastrointestinal e rim³². Entretanto

na maioria dos casos reportados os sintomas são similares aos observados nos pacientes que apresentam somente LV e não são infectados por HIV, porém, existe a presença de diarreia e há um aumento do número de recaídas e da taxa de mortalidade³²⁻³⁵.

1.3. Tratamento da Leishmaniose

Ainda não existe um tratamento efetivo contra as diversas espécies de *Leishmania* existentes, outra deficiência no tratamento é a inexistência de vacinas. Em função dessa negligência de prevenção e tratamento contra as leishmanioses culminam em um aumento do número de casos existentes³⁶.

Um possível alvo para tratamento são as enzimas da família topoisomerases³⁷. Estes tipos de enzimas são responsáveis por participarem de diversas funções importantes em vários processos biológicos, como na replicação, transcrição, recombinação e reparação do DNA³⁸. As topoisomerases estão presentes em todos os organismos, sendo classificadas tipo I (Topo1) e tipo II (Topo2)³⁸, atuando respectivamente na quebra de uma fita ou duas fitas de DNA. Nas espécies de *Leishmania*, ambos os tipos são encontrados, sendo a topoisomerase Topo1B, da subfamília da topoisomerase I, responsável por alterar a topologia do DNA, por clivagem e religação de uma única fita do DNA³⁹. Esta enzima do parasita é estruturalmente e/ou funcionalmente diferente da mesma do humano³⁷, tornando-a adequada como alvo para o desenvolvimento de novos fármacos.

Dessa forma a atuação nessa enzima torna-se um campo para possível tratamento, tornando viável o desenvolvimento de fármacos seletivos para inibir esta enzima e impedir a reprodução do parasita^{40,41}, inclusive já existem alguns fármacos que possuem esta função⁴².

Existem ainda outros possíveis alvos para o desenvolvimento de novos fármacos para o tratamento da leishmaniose, como indicado no artigo de revisão de Nagle *et al*¹. Para a espécie *L. amazonensis*, por exemplo, alvos como o esteroide 24-metiltransferase, a enzima CYP P450 14- α -desmetilase e a via biosintética dos esfingolipídios são de interesse, principalmente por apresentarem diferenças estruturais e/ou funcionais entre o parasita e o hospedeiro ou não estarem presente no hospedeiro mamífero, tornando então possível o planejamento de novas drogas.

1.3.1. Fármacos Utilizados para o Tratamento

No Brasil o fármaco utilizado para o tratamento da leishmaniose é o antimoniato de meglumina (Glucantime®)¹⁷, Figura 2a, um antimônio pentavalente (Sb^{5+}), sendo considerado um fármaco de primeira linha, ou seja, aqueles de primeira abordagem de tratamento. Apesar do baixo custo apresenta alguns problemas, como a resistência, relacionada à cada indivíduo ou a regiões geográficas, além de diversos efeitos colaterais como taquicardia, arritmias, cardiotoxicidade, mialgia, pancreatite, insuficiência renal, entre outros^{1,17,43}. Outro problema ocasionado pelo uso deste fármaco é a alta toxicidade que este causa a pacientes que são HIV positivo^{1,33}. Outro fármaco considerado de primeira linha é o estibogluconato de sódio, Figura 2b, também um antimônio pentavalente, apresentando os mesmos benefícios e malefícios do antimoniato^{1,43,44}.

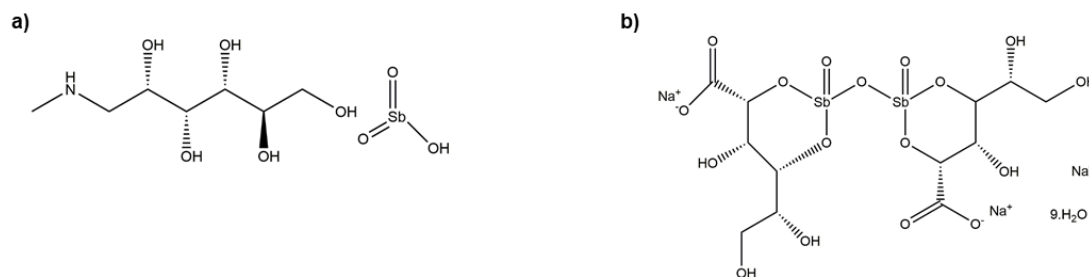


Figura 2: Estrutura química dos fármacos de primeira linha utilizados para o tratamento das leishmanioses. **a)** Antimoniato de Meglumina **b)** Estibogluconato de Sódio.

1.3.2. Fármacos Alternativos

Apesar de serem usados no tratamento padrão para as leishmanioses, os antimoniais pentavalentes, em muitos casos não são eficazes, principalmente no que se diz respeito à resistência do fármaco que o parasita apresenta. Portanto, fármacos alternativos têm sido desenvolvidos visando corrigir os efeitos colaterais causados pelos antimoniais pentavalentes e não apresentarem resistência ao longo do tratamento. Os fármacos mais notáveis são: Anfotericina B (Figura 3a), Pentamidina (Figura 3b), Miltefosina (Figura 3c) e Paromomicina (Figura 3d). Mas em alguns casos, apesar de suas especificidades, estes fármacos não são tão efetivos quando comparados com os antimoniais pentavalentes, apresentando também alguns efeitos colaterais^{1,45}.

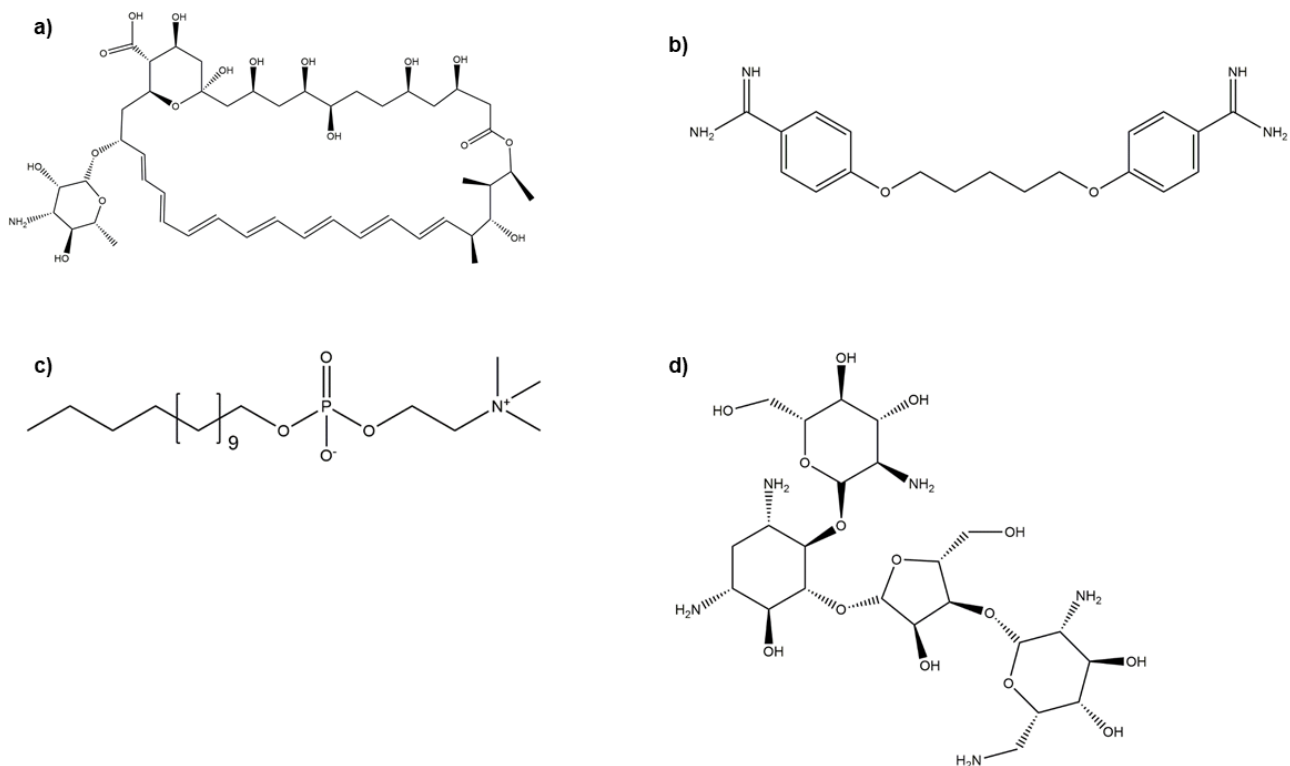


Figura 3: Estrutura química de alguns fármacos alternativos utilizados para o tratamento das leishmanioses. **a)** Anfotericina B; **b)** Pentamidina; **c)** Miltefosina; e **d)** Paromomicina.

A Anfotericina B é geralmente utilizada no caso de resistência ao uso de Sb^{5+} e é bastante restritiva devido aos inúmeros efeitos tóxicos e alto custo⁴⁶. A pentamidina é utilizada em pacientes que não respondem ou que são hipersensíveis aos antimoniais, porém apresenta alta toxicidade^{1,17,44}.

A miltefosina é um fármaco anticâncer e foi comprovado que é ativa contra a *Leishmania* levando a apoptose e a morte do parasita⁴⁷. Possui, ainda, a vantagem de ser um tratamento via oral no caso da leishmaniose visceral⁴⁶, porém é muito tóxica para os rins e fígado, causa problemas gastrointestinais e não é indicado para pacientes gestantes^{1,46,47}.

Por fim, a paromomicina é usada no tratamento da LV, possui um baixo custo comparado à outros fármacos, mas causa diversos efeitos colaterais, como ototoxicidade e alta hepatotoxicidade^{1,44}.

Portanto, devido aos problemas que os fármacos utilizados atualmente causam e por não existir um tratamento efetivo contra as leishmanioses, existe a demanda para o desenvolvimento de novos fármacos com atividade antileishmania.

Para os fármacos citados anteriormente existem algumas hipóteses de mecanismo de ação. Para os considerados de primeira linha, os antimoniais, existe

a hipótese de um mecanismo de oxirredução em que o Sb^{+5} irá reduzir para Sb^{+3} , sendo considerado um pró-fármaco⁴⁸, os fármacos antimoniais interferem no metabolismo do nucleosídeo da *Leishmania* inibindo a topoisomerase da mesma⁴⁹ e uma outra hipótese é a inibição da enzima superóxido dismutase (SOD), que é uma enzima importante para a sobrevivência intracelular do parasita, ocasionando no aumento de radicais livres tóxicos⁵⁰. O mecanismo da anfotericina B não está totalmente elucidado, porém uma das hipóteses é que ela irá se ligar ao ergosterol da membrana celular alterando a permeabilidade da membrana e do equilíbrio osmótico do parasita^{44,51}. Para a pentamidina, acredita-se que ela inibe algumas enzimas impedindo então a síntese de moléculas importantes para a manutenção da vida do parasita⁴⁴. O mecanismo de ação da miltefosina também segue desconhecido, uma hipótese é que este fármaco irá causar a apoptose e que também possa afetar a fluidez da membrana plasmática^{44,47}. O mecanismo de ação da paromomicina está relacionado com a alteração da síntese de proteínas e uma outra possibilidade é que o fármaco atue no RNA ribossomal do protozoário^{47,52}.

Em vista disso, o grupo de pesquisa Laboratório de Síntese Orgânica da UNIFEI, coordenado pelo professor Maurício Silva dos Santos, sintetizou algumas substâncias com possível atividade antileishmania, séries MSO e MSP, Figura 4. Sendo que algumas destas substâncias foram testadas contra a *Leishmania amazonensis* e *Leishmania braziliensis*, ambas *in vitro* e nas formas promastigotas. Para a substância MSP01 o IC_{50} , que é a medida da metade da concentração inibitória máxima de determinado composto em uma população⁵³ foi igual a $26,93 \pm 2,3 \mu\text{mol/L}$ contra a *Leishmania amazonensis*, um valor relativamente próximo da pentamidina: $IC_{50} 10 \mu\text{mol/L}$. As substâncias MSO04 e MSP04 apresentaram IC_{50} para a *Leishmania amazonensis* de $48,8 \pm 1,4 \mu\text{mol/L}$ e $66,3 \pm 2,4 \mu\text{mol/L}$, respectivamente, um valor que pode ser considerado insatisfatório se comparado, por exemplo, com a pentamidina.

Pouco se sabe sobre a interação dessas substâncias inéditas no organismo e com as diversas espécies de *Leishmania*, logo, combinar estudos teóricos dessas moléculas com possível atividade antileishmania com estudos experimentais pode viabilizar a elucidação das estruturas das substâncias sintetizadas e as propriedades eletrônicas e termodinâmicas, por exemplo. Além do mais é possível realizar cálculos destas substâncias com algumas macromoléculas biológicas. Desta forma, os cálculos computacionais poderão indicar possíveis interações das substâncias de

estudo com a enzima de topoisomerase do parasita, por exemplo, permitindo compreender os mecanismos de ação.

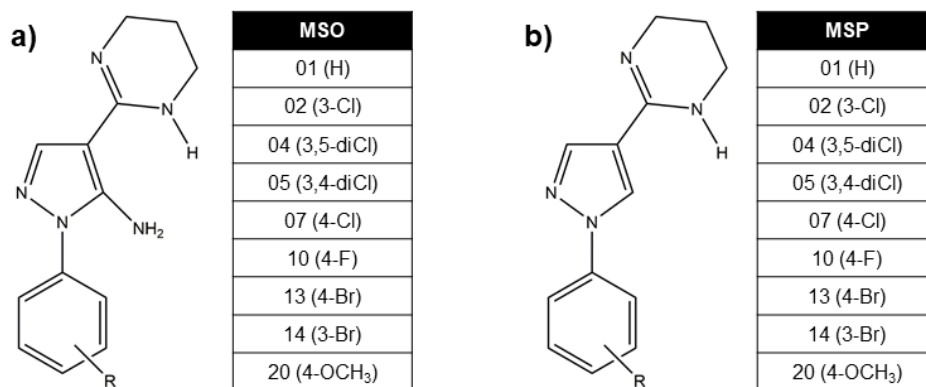


Figura 4: Substâncias sintetizadas pelo grupo de colaboração experimental. **a)** série MSO
b) série MSP.

1.4. Química Computacional e Leishmaniose

A química computacional se baseia em um conjunto de técnicas para investigar problemas químicos em um computador⁵⁴. Por meio dela é possível fazer a análise entre estrutura e atividade biológica, podendo prever as interações entre o ligante e o alvo biológico⁵⁵. Para isto, existem diversos métodos computacionais de análise das diferentes relações entre estrutura e atividade biológica, sejam métodos quânticos ou clássicos. Alguns exemplos são: simulações quânticas ou métodos não quânticos como cálculos de dinâmica molecular, *docking*⁵⁶ e como o estudo de relações de estrutura-atividade quantitativas (QSAR)⁵⁷, que podem ser obtidos a partir de cálculos quânticos, não quânticos ou programas próprios para isso, inclusive esses modelos de QSAR podem ser utilizados como modelos preditivos de alguma propriedade biológica específica⁵⁸⁻⁶⁰.

Uma das maiores vantagens de se utilizar a química computacional é por ela ser mais barata para se estudar um determinado composto do que qualquer outro teste laboratorial, apresentando uma boa relação custo-eficiência⁵⁵, podendo ser utilizada para auxiliar no planejamento de novos fármacos. Assim, pode ser mais vantajoso fazer estudo *in silico* primeiro e a partir dos resultados analisar os fármacos ou proteínas mais significativos, para se realizar etapas experimentais como síntese, caracterização e testes biológicos⁶¹.

Devido a esta vantagem em relação ao custo, muitos estudos envolvendo doenças negligenciadas utilizam-se da química computacional⁶²⁻⁶⁴ e então a partir dos resultados obtidos os pesquisadores tomam a decisão de realizar a síntese ou

não de determinados potenciais fármacos. Além disso, os testes *in silico* podem fornecer resultados que possam explicar ou sugerir algum mecanismo de ação para determinado fármaco⁶⁵, ou até mesmo determinar novos compostos ativos⁶⁶. Por meio destes tipo de testes é possível simular e analisar as interações do fármaco ou molécula de interesse com a enzima e/ou proteína⁵⁶.

Em relação ao mecanismo de ação, sabe-se que identificar um alvo biológico de alguma doença é crucial para desenvolver novos fármacos⁶⁷. E com os avanços tecnológicos recentes isto pode se tornar uma tarefa relativamente mais fácil. Nos últimos anos estudos teóricos de moléculas com atividade antileishmania têm sido realizados para observar as interações com enzimas ou proteínas que acreditam-se ser responsáveis por causar a reprodução do parasita no mamífero infectado⁶⁸.

As leishmanioses por serem doenças negligenciadas, os recursos que são investidos para pesquisa são limitados dificultando, ainda mais, a descoberta de novos tratamentos ou novas pistas para produção de fármacos^{40,69}. Mesmo assim, vários estudos de relação estrutura-atividade mostraram que sistemas heterocíclicos como: pirazol, imidazolina e tieno[2,3- β]piridina, por exemplo, possuem amplo espectro de atividade biológica, podendo ser uma boa opção como centro ativo para a síntese de novas moléculas com potencial efeito antileishmania⁷⁰⁻⁷⁶.

Há um número significativo de trabalhos na literatura utilizando Mecânica Molecular (MM) para as leishmanioses, principalmente quando se trata de sistemas complexos, como por exemplo, estudo das interações de moléculas de interesse com proteínas^{68,77-80}.

Ao utilizar ambas as metodologias, baseadas tanto na mecânica molecular quanto na mecânica quântica, pode se obter resultados mais confiáveis, para os quais se determina primeiramente os sítios de interação de sistemas complexos (que envolvam macromoléculas) com mecânica molecular e posteriormente analisar melhor as interações entre a molécula de interesse e os resíduos da proteína/enzima com cálculos quânticos^{54,81}.

Em termos da utilização de docking, em 2015 V. Mandlik e S. Singh⁷⁹ publicaram um artigo no qual um dos objetivos verificar as interações entre moléculas derivadas do benzimidazol com enzima inositol fosfoesfingolipídio-fosfolipase C (ISCL), a fim de obter inibidores mais efetivos.

Para analisar as interações entre os possíveis alvos de ligação da ISCL as autoras utilizaram dinâmica molecular e *docking*. Como resultado identificaram um

melhor sítio de interação de moléculas derivadas do benzimidazol com a proteína, caracterizado por um mínimo de energia. Feito isso as autoras puderam realizar o *docking* das moléculas derivadas do benzimidazol com a enzima e obtiveram como principal resultado, que somente uma molécula das que foram estudadas possui interação relevante com algum resíduo de aminoácidos, já determinado como essencial para a funcionalidade da ISCL. Dessa forma devido a uma forte interação com uma região funcional da proteína, a molécula selecionada age como um inibidor.

Um outro estudo utilizando *docking* foi realizado por C. A. Rocha e colaboradores⁶⁵. Neste estudo os autores tinham como objetivo estudar a inibição da proteína de Topoisomerase IB da *Leishmania donovani* utilizando ácido dihidrobetulínico (DHBA). Primeiramente eles tiveram que reconstruir a proteína através de um protocolo de resíduos faltando, já que o PDB (2B9S) utilizado, continha íon de vanadato⁸² e, após realizar o *docking* com o DHBA foram feitos cálculos de dinâmica molecular. Neste artigo os autores identificaram dois possíveis sítios onde o DHBA pode interagir com a TopoIB. Após as análises dos resultados, propuseram um novo mecanismo no qual o DHBA estará localizado em um sítio de ligação da proteína prevenindo a ligação do DNA: (i) O DNA precisa estar localizado na região de seu reconhecimento de ligação no canal da Topo IB, sendo este um passo chave que irá permitir o ataque do resíduo TYR222; (ii) a ligação do DHBA previne uma interação específica com o DNA, o que faz com que a atividade catalítica da Topo IB seja bloqueada.

Portanto estudos computacionais de moléculas com atividade antileishmanias, sejam essas espécies com potencial conhecido ou promissoras para combater as leishmanioses, A química computacional contribui então com a abordagem do problema sob um ponto de vista molecular, sendo possível indicar como acontecem as interações importantes entre esses ligantes e o alvo biológico revelando detalhes sobre os mecanismos de ação.

Este trabalho tem como enfoque, utilizando o software Gaussian09⁸³, realizar cálculos quânticos com o objetivo de compreender melhor estruturalmente as substâncias das séries MSP e MSO e conseqüentemente avaliar sua interação com a topoisomerase, a fim de elucidar o mecanismo de ação destas através de simulações de mecânica molecular. Além de determinar teoricamente, por meio de

um modelo de QSAR, a atividade biológica destas substâncias a partir de determinados descritores.

2. CAPÍTULO 2
OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral:

O objetivo geral deste trabalho é aplicar métodos de química computacional para compreender possíveis mecanismos de ação e determinar a atividade biológica teórica das moléculas apresentadas na Figura 4, com potencial ação antileishmania.

2.2 Objetivos Específicos:

- ❖ Determinar parâmetros estruturais, eletrônicos, termodinâmicos e cinéticos para as moléculas sintetizadas;
- ❖ Realizar cálculos de análise conformacional das moléculas em estudo e determinar as populações dos confórmeros;
- ❖ Estabelecer teoricamente valores da atividade biológica destas moléculas, a partir de determinadas propriedades químicas;
- ❖ Calcular o coeficiente de partição (LogP) para cada uma das moléculas em estudo;

3. CAPÍTULO 3
FUNDAMENTOS TEÓRICOS E
METODOLOGIA DE EXECUÇÃO

A Química Teórica desenvolve teorias e modelos para se tratar de problemas químicos. A Química Computacional consiste em investigar problemas químicos em um computador, introduzindo a teoria em códigos computacionais. E finalmente, o uso de métodos e técnicas da Química Computacional para investigar problemas químicos é conhecido como Modelagem Molecular, ou seja, aplicar teorias para o estudo de sistemas de interesse químico⁸¹.

Para resolver estes problemas químicos em um computador, como analisar um sistema ao nível molecular, estudar as propriedades eletrônicas, espectroscópicas e termodinâmicas de moléculas e até calcular propriedades que não são possíveis experimentalmente, os químicos computacionais dispõem de algumas metodologias para isto, baseadas essencialmente em Mecânica Clássica e Mecânica Quântica⁵⁴. Os métodos fundamentados em mecânica clássica são normalmente chamados de Mecânica Molecular⁸⁴. É baseada no modelo no qual se pode considerar os átomos de uma molécula como esferas, que estão unidas por molas, que são as ligações químicas, podendo se medir a energia destes sistemas de uma maneira indireta^{54,81}.

Já a Mecânica Quântica contempla uma descrição mais complexa do sistema, pois agora, os elétrons são descritos, tendo como principal interesse a resolução da equação de Schrödinger, Equação 1, independente do tempo, para se obter a energia do sistema. Porém, a equação de Schrödinger não pode ser resolvida analiticamente para moléculas com mais de um elétron, portanto diversas aproximações matemáticas são utilizadas para contornar este problema^{54,81}.

$$\hat{H}\Psi = E\Psi \quad 1.$$

\hat{H} é o operador Hamiltoniano que opera sobre a função de onda Ψ . A energia do sistema representado por E .

Uma dessas aproximações para resolver sistemas polieletrônicos foi a aproximação de Born-Oppenheimer. De acordo com esta aproximação, como o núcleo se move muito mais lentamente do que os elétrons devido a grande diferença de massa, é possível separar a equação de Schrödinger, sendo considerada uma parte nuclear e outra eletrônica. Logo, pode-se escrever a equação de Schrödinger da seguinte maneira:

$$\hat{H}\Psi(r,R)=E\Psi_{\text{total}}(r,R) \quad 2.$$

$$\text{onde: } \Psi_{\text{total}}(r,R)=\Psi_{\text{el}}(r,R)\Psi_{\text{n}}(R)$$

Assim a função de onda total é obtida a partir do produto das funções de onda eletrônica ($\Psi_{\text{el}}(r,R)$) e nuclear ($\Psi_{\text{n}}(R)$). Sendo que para a função de onda eletrônica irá depender das coordenadas eletrônicas (r) e parametricamente das coordenadas do núcleo (R), logo, para a energia eletrônica as posições do núcleo são mantidas fixas. Pelo fato do núcleo estar fixo, os termos de sua energia cinética não irão aparecer na função de onda puramente eletrônica, porém para a energia total, que é a energia eletrônica incluindo a repulsão internuclear, ele estará representado pelo último termo da Equação 3.

$$E_{\text{total}}=E_{\text{el}}+\sum_A\sum_{B>A}\frac{Z_A Z_B}{R_{AB}} \quad 3.$$

Portanto, após encontrar a E_{el} é possível resolver a equação para o movimento dos núcleos, sendo assim torna-se possível encontrar o Hamiltoniano do sistema. Porém, como existe o termo de repulsão eletrônica no Hamiltoniano eletrônico, é impossível, matematicamente, resolver sistemas com número de partículas maior que dois.

3.1 Método de Hartree-Fock

O método de Hartree-Fock (HF), é conhecido como um método *ab initio*, não utilizando nenhum parâmetro experimental para realizar seus cálculos, possui como uma das maiores vantagens realizar cálculos de muitos elétrons utilizando a equação de Schrödinger em equações de um elétron que são mais simples de serem resolvidas⁸⁴, ou seja, tornando possível a resolução de sistemas com número de partículas maior que dois, em que as interações reais de elétron-elétron são substituídas por uma interação média⁸⁵.

Para que isto seja possível, a correlação eletrônica, ou seja, como um elétron irá interagir com outro, deve ser ignorada, fazendo com que um elétron fique sujeito a um potencial efetivo⁸¹. E ignorando a correlação eletrônica, fará com que a energia obtida pelo método HF não seja igual a energia exata do sistema, a energia obtida será maior do que a energia exata^{81,84,86}.

Este método da obtenção da energia do sistema, que é iterativo, é conhecido como ciclo autoconsistente de Hartree-Fock⁸⁷. Porém, o método de HF possui a limitação de não incluir a correlação eletrônica, devido a isso existem

alguns métodos que tentam corrigir este problema, como a perturbação de Møller-Plesset (MPn, no qual o n é o número da ordem dessa correção), que será abordada mais adiante, método multiconfiguracional de campo autoconsistente, método de interação de configurações, entre outros^{84,86}.

3.2 Teoria do Funcional de Densidade – DFT^{54,85–88}

A DFT é uma das metodologias computacionais mais utilizadas, senão a mais utilizada atualmente, e isto está diretamente relacionado com os resultados que são obtidos a partir deste método. Uma vez que os resultados obtidos são exatos quando comparados com outras metodologias como Hartree-Fock e também a perturbação de Møller-Plesset, porém a DFT é mais simples de resolver, o que ocasiona em um menor tempo computacional⁸⁹.

Esta teoria começou a ser desenvolvida quando Hohenberg e Kohn demonstraram que é possível calcular a energia de um sistema a partir da densidade eletrônica, que é a energia dos elétrons se movendo sob um potencial externo em um núcleo atômico, através da Equação 4:

$$\int \rho(r) dr = N \quad 4.$$

$\rho(r)$ é a densidade eletrônica e a integral é calculada sobre o todo o espaço. Logo, a partir da densidade eletrônica é possível determinar o Hamiltoniano do sistema e como a energia é calculada a partir da resolução da equação de Schrödinger, Equação 1, é possível determinar a energia no estado fundamental, E_0 , de um sistema eletrônico através da densidade eletrônica $\rho(r)$:

$$E_0 = E_0[\rho_0] \quad 5.$$

Outro teorema apresentado por Hohenberg e Kohn é que a densidade obedece ao princípio variacional, no qual a energia total calculada será sempre maior ou igual a energia exata do sistema. Sendo assim, a densidade que descreve o sistema é aquela que se aproxima da densidade eletrônica do sistema com energia exata, apresentando a menor energia. Portanto para calcular a energia do estado fundamental utiliza-se de funcionais que irão conter as interações eletrônicas, como mostrado na Equação 6:

$$E_0[\rho_0] = \int \rho_0(r) v(r) dr + F[\rho_0] \quad 6.$$

Nessa equação $v(r)$ é o potencial externo do sistema e $F[\rho_0]$ é um funcional universal. Na Equação 7 é definido um funcional universal, $F[\rho_0]$:

$$F[\rho_0] = \langle \Psi | \hat{T} + \hat{V}_{ee} | \Psi \rangle \quad 7.$$

\hat{T} é a energia cinética do sistema e \hat{V}_{ee} é a energia potencial elétron-elétron, em que ambos se aplicam universalmente a todos os sistemas eletrônicos.

Logo a DFT parte desta ideia, a energia de um sistema pode ser determinada em função da densidade eletrônica. O método de maior sucesso para implementar a DFT foi proposto por Kohn e Sham (KS), descrevendo o Hamiltoniano do sistema com interação elétron-elétron. KS, a partir do teorema proposto por Hohenberg e Kohn, descreveram um sistema de referência, excluindo as interações entre os elétrons, com o intuito de encontrar o Hamiltoniano para isto, representado na Equação 8:

$$\hat{H}_{KS} = \sum_{i=1}^n \left[-\frac{1}{2} \nabla_i^2 + v_r(r_i) \right] \quad 8.$$

n é o número de elétrons, o laplaciano é o operador de energia cinética e v_r é o potencial externo do sistema de referência atuando no elétron i . Portanto, como o v_r é igual ao potencial efetivo de um sistema no estado fundamental, então a densidade eletrônica também será. Então KS reescreveram a Equação 6 e incluíram os efeitos de troca e correlação eletrônica, adicionando um novo funcional $G[\rho]$:

$$E_v = G[\rho] + \frac{1}{2} \iint \frac{\rho(r_1)\rho(r_2)}{|r_1-r_2|} dr_1 dr_2 + \int \rho(r)v(r)dr \quad 9.$$

$$G[\rho] = T_s[\rho] + E_{xc}[\rho] \quad 10.$$

Nesta equação E_{xc} é o termo de troca e o T_s é o funcional da energia cinética do sistema de referência que tem a mesma densidade eletrônica do sistema efetivo.

As equações KS são equações para um elétron descrevendo sistemas de muitos elétrons, sendo resolvidas iterativamente. Porém o funcional E_{xc} não possui uma solução analítica conhecida, sendo a parte mais difícil na resolução das equações KS. Esse fato leva ao uso de aproximações para se obter o funcional de troca e correlação e estas aproximações definem os métodos da DFT, quanto melhor for o funcional, ou seja, aquele que fornecer os resultados mais próximo possível de resultados experimentais, melhor será descrito o sistema em estudo.

3.3 Teoria de perturbação de Møller-Plesset^{54,85-88}

A teoria da perturbação consiste em métodos perturbativos para a correlação eletrônica, uma vez que ao incluí-la irá diminuir a energia em repulsão elétron-elétron, portanto, os métodos perturbativos tentam corrigir estes valores de

energia, aproximando ainda mais a energia para a energia exata do sistema através de um parâmetro λ , que está relacionado a perturbação, no Hamiltoniano:

$$\hat{H} = \hat{H}^0 + \lambda \hat{H}' \quad 11.$$

Na Equação 11 \hat{H} é o Hamiltoniano exato do sistema e \hat{H}^0 é o Hamiltoniano não perturbado do sistema. Para esta equação, λ varia de 0 a 1, quando $\lambda = 0$, obtêm-se: $\hat{H} = \hat{H}^0$, ou seja, nenhuma perturbação foi incluída⁸¹.

Logo, a partir da Equação 11, tanto a função de onda quanto a energia perturbada são dependentes do parâmetro λ .

$$E_0 = E_0(\lambda) \quad 12.$$

$$\Psi_0 = \Psi_0(\lambda, R) \quad 13.$$

R representa o conjunto das coordenadas da função de onda e o subscrito 0 não significa que é o estado fundamental e sim o estado de interesse. Na teoria de perturbação a energia de um estado se expande como uma série de Taylor em potências de λ :

$$E_0 = E_0^{(0)} + \lambda E_0^{(1)} + \lambda^2 E_0^{(2)} + \dots \quad 14.$$

Da Equação 14 é possível observar que quando a perturbação tem ordem zero voltamos para a equação original.

Vários métodos a partir da teoria da perturbação foram desenvolvidos para sistemas com muitas partículas interagindo. Estes métodos foram chamados de teoria de perturbação de muitos corpos (MBPT) ou teoria de perturbação de Møller-Plesset (MP), isto porque Møller e Plesset definiram que a função de onda não perturbada seria a função de onda eletrônica Hartree-Fock (HF):

$$\hat{H}^0 = \sum_{i=1}^N f(i) \quad 15.$$

f é um operador de Fock, Equação 16, que é definido para cada elétron i, portanto a soma é sobre todos os elétrons i do sistema.

$$f(i) = h(i) + \sum_b (J_b - K_b) \quad 16.$$

$$E_a = f_{aa} = 2 \sum_a^{N/2} h_{aa} + \sum_a^{N/2} \sum_b^{N/2} 2 j_{ab} - K_{ab}$$

Nesta equação $h(i)$, é o operador de *core*, que é a soma da energia cinética do elétron i com a energia potencial de atração entre o elétron i e o núcleo. J_b é o operador de Coulomb e K_b é o operador de Troca. E devido ao operador $h(i)$ as interações entre o elétron i com os outros elétrons são omitidas, sendo envolvidas todas as coordenadas de todos os i -elétrons do sistema.

Logo:

$$\hat{H}_0 = \sum_i f(i) = \sum_i [h(i) + V^{HF}(i)] \quad 17.$$

$$\hat{V} = \sum_{i \neq j} \frac{1}{r_{ij}} - \sum_i V^{HF}(i) \quad 18.$$

Quando \hat{H}^0 é aplicado a função de onda de HF, obtemos a energia de ordem zero:

$$\hat{H}^0 \Psi^0 = \sum_i \epsilon_i \Psi^0 \quad 19.$$

Da mesma maneira a de primeira ordem é dada pela equação:

$$E_0^1 = \langle \Psi_0^0 | V | \Psi_0^0 \rangle = \langle \Psi_0^0 | \sum_{i \neq j} \frac{1}{r_{ij}} | \Psi_0^0 \rangle - \langle \Psi_0^0 | \sum_i V^{HF}(i) | \Psi_0^0 \rangle \quad 20.$$

A energia encontrada para a equação 20 é a própria energia HF. Para melhorar esta energia de HF, deve-se incluir uma correção de segunda ordem de energia, representado na Equação 21:

$$E_0^2 = \frac{1}{4} \sum_{i < j}^{\infty} \sum_{k < l}^{\infty} \frac{|\langle kl || ij \rangle|^2}{(\epsilon_i + \epsilon_j + \epsilon_k + \epsilon_l)} \quad 21.$$

Os orbitais virtuais são k e l e as energias destes são ϵ_k e ϵ_l respectivamente; e os orbitais ocupados apresentam o índice i e j ; sendo que $i < j$ e $k < l$. Esta restrição evita a inclusão por mais de uma vez da eletrônica de orbitais ocupados para os orbitais virtuais. A Equação 21 como mencionado anteriormente representa a segunda ordem de correção e recebe o nome de MP2, sendo considerado, possivelmente, o modelo mais simples para a correção de energia de HF. Existem outros modelos de correção de energia que também são comuns como cálculos de terceira ordem (MP3) e quarta ordem (MP4), porém as utilizações destes métodos vão ficando cada vez mais limitados quando aumenta a ordem de correção, já que o custo computacional também irá aumentar.

3.4 Modelos contínuos de solvatação

Diversos processos químicos, tal como síntese de determinadas moléculas e reações em meio biológico, ocorrem em solução, portanto estudar moléculas nesta fase é algo relevante, uma vez que diversos fatores podem ser influenciados mudando da fase gás para solução.

Além do mais, algumas propriedades que são consideradas importantes para a atividade biológica de fármacos, como o coeficiente de partição (LogP), são medidas em solução⁹⁰, para o LogP, por exemplo, é medido o quanto o soluto em estudo está distribuído em duas fases imiscíveis (água e 1-octanol), representado na equação 22:

$$P = \frac{C_A}{C_B} \quad 22.$$

Nesta equação P é o coeficiente de partição, C_A é a concentração em equilíbrio no solvente A e C_B é a concentração em equilíbrio no solvente B. E esses valores são tabelados como LogP.

A solvatação pode ser definida como o processo em que ocorre a transição de uma molécula que está na fase gás para a fase em solução⁹¹. Sendo que a molécula é transferida de uma posição fixa na fase gás para uma posição fixa em solução. Essa transferência da molécula da fase gás para a fase em solução é medida a partir da energia livre de solvatação (ΔG_{solv})⁸¹, sendo que esse processo de solvatação pode ser representado por meio de um ciclo termodinâmico, Figura 5, uma vez que todas as energias livres de solvatação das espécies participantes na reação, R como reagente e P como produto, são consideradas⁹¹.

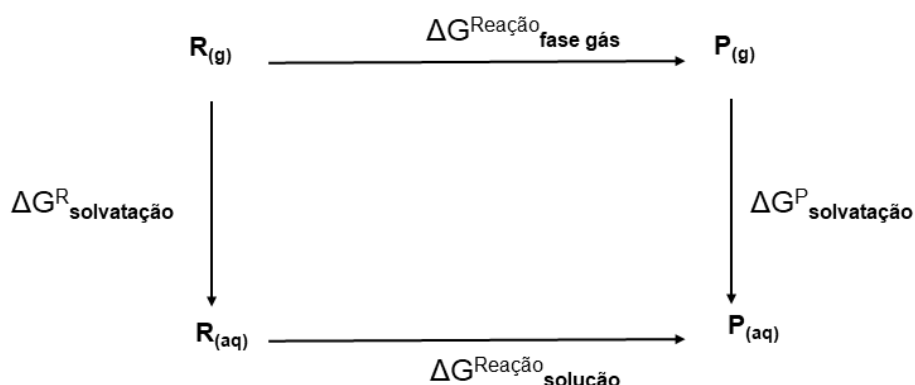


Figura 5: Representação do ciclo termodinâmico para descrever como é obtido a energia livre de solvatação.

Do ciclo termodinâmico para se calcular o $\Delta G^{\text{Reação}}_{\text{solução}}$ ^{81,92}:

$$\Delta G^{\text{Reação}}_{\text{fase gás}} = G^{\text{P}}_{\text{fase gás}} - G^{\text{R}}_{\text{fase gás}} \quad 23.$$

$$\Delta G_{\text{solução}}^{\text{Reação}} = G_{\text{solução}}^{\text{P}} - G_{\text{solução}}^{\text{R}} \quad 24.$$

$$\Delta G_{\text{solução}}^{\text{Reação}} = \Delta G_{\text{fase gás}}^{\text{Reação}} + \Delta \Delta G_{\text{solvatação}}^{\text{Reação}} \quad 25.$$

Desta maneira se torna possível desenvolver modelos para calcular a energia livre de solvatação. Para os modelos contínuos de solvatação a estrutura do solvente é ignorada, ou seja, o solvente é tratado implicitamente⁹³, para representar a solução é utilizado um campo dielétrico contínuo de extensão infinita⁸⁷. Logo o soluto é inserido em uma cavidade no solvente e assim as interações entre o soluto e o solvente são calculadas^{81,91}, por meio das cargas que interagem com o dielétrico.

A cavidade é muito importante, uma vez que nesta cavidade estará o soluto e ao redor da cavidade o contínuo dielétrico⁸⁷. Assim, para se calcular a energia livre de solvatação, considera-se também esta energia necessária para se criar a cavidade (ΔG_{cav}), além de contribuições eletrostáticas como a repulsão-dispersão ($\Delta G_{\text{rep-disp}}$) e potencial eletrostático (ΔG_{ele})⁸¹.

Em 1936, Onsager introduziu o termo campo de reação R, ele demonstrou a partir da equação 26, que o campo elétrico da cavidade é produzido pela polarização causada pelo dielétrico^{87,94}.

$$R = \frac{2(\epsilon - 1)}{(2\epsilon + 1)\alpha^3} \mu \quad 26.$$

O termo ϵ é a constante dielétrica do solvente, α é o raio da esfera que representa a cavidade e μ é o momento dipolo do soluto. Os modelos de solvatação contínuo estão descritos a partir da equação de Poisson⁸¹, equação 27, a fim de se obter o potencial eletrostático⁹⁰.

$$\nabla^2 \phi(r) = -\frac{4\pi\rho(r)}{\epsilon} \quad 27.$$

O potencial eletrostático (ϕ) representado na equação 27 é obtido em função da densidade de carga do soluto (ρ) e da constante dielétrica do solvente (ϵ). Os modelos contínuos são amplamente utilizados para tratar o efeito solvente, principalmente, por serem calculados rapidamente⁹³.

Quando tratado o efeito solvente utilizando destes modelos, visando obter resultados mais exatos possíveis, foi desenvolvido o campo de reação autoconsistente (SCRf – *Self Consistent Reaction Field*), ou seja, o soluto deve ser otimizado na presença do campo de reação exercido sobre ele pela constante

dielétrica do solvente. Desta forma ocorre a descrição quanto-mecânica do soluto, e assim, de maneira iterativa, o soluto polariza o solvente que irá causar uma nova polarização no soluto, logo a auto consistência depende da distribuição de carga do soluto e do campo de reação do solvente^{81,87,93,95}.

Existem modelos para descrever a solvatação continua como o PCM (*Polarizable Continuum Model*) e também SMD (*Solvation Model Density*)⁹³. O primeiro conjunto de metodologias é mais conhecido da comunidade de química computacional.

3.4.1. *Solvation Model Density (SMD)*

O modelo SMD vem da série de modelos de solvatação SMx, para qual x=1,2,3,...,12, que representa o número da versão do modelo, desenvolvido por Cramer, Truhlar e colaboradores^{93,96}. Porém como está descrito no próprio nome do modelo SMD, o D significa densidade, logo ao invés de descrever as cargas dos átomos como os outros modelos da série SMx faziam para definir o soluto⁹⁶, este utiliza a densidade completa do soluto, podendo ser aplicado tanto para solutos com ou sem cargas em qualquer solvente⁹³, sendo descrito no artigo original do modelo de SMD como um modelo universal para modelos implícitos⁹⁶.

Este modelo utiliza do método SCRF para calcular a energia livre de solvatação, se baseando na equação de Poisson⁸⁷, descrita da seguinte maneira⁹⁶:

$$\Delta G_{\text{solv}}^{\circ} = \Delta E_{\text{ENP}} + G_{\text{CDS}} + \Delta G_{\text{conc}}^{\circ} \quad \mathbf{28.}$$

Portanto a energia livre é dependente da soma da diferença dos termos da energia nuclear (N), eletrônica (E) e da polarização (P) entre a energia livre calculada na fase gás e a calculada na fase líquida (ΔE_{ENP}), é importante ressaltar que caso a geometria do soluto for a mesma na fase gás e em solução se desconsidera o termo N. A energia necessária para criar a cavidade no solvente (C), as interações de dispersão entre soluto e solvente (D) e as possíveis mudanças estruturais no solvente (S) estão associados com a mudança de energia livre representado por G_{CDS} . Por fim, $\Delta G_{\text{conc}}^{\circ}$ é a mudança, caso exista, entre a concentração do estado padrão da fase gasosa para a fase líquida.

3.5 Estudo teórico de análise conformacional^{86,87,97}

Quando uma molécula possui diferentes arranjos espaciais resultantes da rotação ao longo de uma ligação simples, pode-se dizer que ela possui outras

conformações. Essas diferentes configurações geométricas, geralmente, resultam também em outros valores de energia. Para muitas moléculas existe uma mistura de diferentes conformações em equilíbrio, sendo que aquele mais estável será estatisticamente mais populoso quando comparado com os outros confórmeros a uma determinada temperatura.

Para se conhecer o confórmero predominante, é necessário saber a energia de todas as conformações da molécula em estudo, ou seja, a conformação que for o mínimo global na Superfície de Energia Potencial (SEP), provavelmente, será a predominante, mas outras conformações que também são considerados mínimos, podem apresentar significativa população em determinada temperatura⁹⁷.

É muito importante conhecer os confórmeros de uma molécula, uma vez que, se a molécula for produzida para fins farmacológicos, por exemplo, diferentes conformações podem apresentar diferentes atividades biológicas⁹⁷. Assim como os compostos de interesse (MSO e MSP) foram sintetizados com interesse farmacológico.

Existem alguns métodos computacionais para se encontrar possíveis conformações de uma molécula, como os métodos de: busca sistemática, busca aleatória, algoritmos genéticos, algoritmos de distância-geometria, entre outros. A seguir será discutido um pouco mais sobre método de busca sistemática, já que este foi utilizado para realizar a análise conformacional neste trabalho^{87,97}.

O método de busca sistemática irá variar algum parâmetro conformacional para buscar outras conformações. No caso desse trabalho os parâmetros selecionados foram ângulos diédricos das moléculas, sendo necessário a existência de uma rotação livre, para que assim seja possível gerar novas conformações. A partir de um ângulo diedro em torno de uma única ligação, como representado na Figura 6, será rotacionado por meio de um $\Delta\theta$ fixo até que vários arranjos possíveis de ângulos diedros para o $\Delta\theta$ definido tenham sido gerados. Quanto maior for o $\Delta\theta$ menor será o número de conformações geradas, conseqüentemente, quanto menor for o passo de rotação do ângulo diedro maior será o número de conformações. Assim, a exatidão da SEP está diretamente ligada ao passo variacional do parâmetro escolhido, para este caso o ângulo diedro, pois quanto menor $\Delta\theta$ mais conformações obtidas e, possivelmente, mais exato será o resultado .

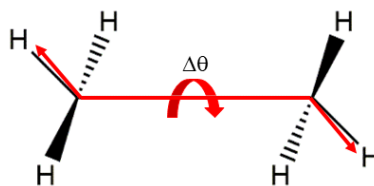


Figura 6: Representação esquemática da variação do ângulo diedro, $\Delta\theta$, da molécula de etano, que pode ser rotacionado no método de busca sistemática.

É importante ressaltar que para qualquer conformação encontrada é necessário a realização de uma otimização de geometria para verificar se a estrutura é um mínimo local ou não realizando análise vibracional.

E como mencionado anteriormente, nem sempre a estrutura com a menor energia na SEP será, necessariamente, a conformação ativa, logo analisar as possíveis conformações de determinada molécula é algo essencial quando se quer entender como é a interação desta com sítios biologicamente ativos. Além do mais, estados biologicamente ativos possuem forma estrutural bem definida, de modo que pode ser determinada através de interações intramoleculares, atrações eletrostáticas, ligações de hidrogênio entre proteína e ligante, por exemplo.

Em alguns casos o número de mínimos que serão encontrados em uma SEP podem ser tantos que realizar cálculo de análise vibracional para cada um pode ser algo inviável. Desta maneira analisar a população das conformações da molécula não é trivial. E como nem sempre o conformero que possui a menor energia pode ser uma conformação ativa, analisar os mínimos acessíveis, que são os mínimos locais na SEP, pode ser importante⁸⁴.

3.6 Análise da população conformacional^{98,99}

Uma vez que se analisa os mínimos acessíveis em uma SEP, realizando cálculos de otimização de geometria e análise vibracional, o último para se obter dados termodinâmicos de determinadas conformações, se torna possível determinar qual a população de cada conformero a partir da energia livre de Gibbs (G).

E isto é importante, pois as diversas conformações possuem estabilidades termodinâmicas diferentes, logo em determinada temperatura existirá em maior quantidade conformações mais estáveis e, conseqüentemente, em menor quantidade conformações menos estáveis⁸¹.

A população de cada conformero pode ser determinada através da constante de equilíbrio (K) do processo de interconversão entre conformeros

distintos. Como exemplo: $M_{\text{inicial}} \rightarrow M_{\text{final}}$, no qual M_{inicial} e M_{final} são conformações da mesma molécula, desta forma o equilíbrio pode ser descrito da seguinte maneira:

$$K = \frac{[M_{\text{final}}]}{[M_{\text{inicial}}]} = e^{\frac{-\Delta G}{RT}} \quad \mathbf{29.}$$

De acordo com a equação 29, ΔG é a diferença entre a energia livre de Gibbs da conformação final e inicial, R é a constante universal dos gases e T a temperatura em Kelvin. A seguir será dado um exemplo para uma molécula no qual existem 5 conformações predominantes para este processo de interconversão. Considerando que, M_1, M_2, M_3, M_4, M_5 , representam as conformações mais estáveis e para se determinar as constantes de equilíbrio destas:

$$K_1 = \frac{[M_1]}{[M_2]} = e^{\frac{-\Delta G_1}{RT}} \quad \mathbf{30.}$$

$$K_2 = \frac{[M_1]}{[M_3]} = e^{\frac{-\Delta G_2}{RT}} \quad \mathbf{31.}$$

$$K_3 = \frac{[M_1]}{[M_4]} = e^{\frac{-\Delta G_3}{RT}} \quad \mathbf{32.}$$

$$K_4 = \frac{[M_1]}{[M_5]} = e^{\frac{-\Delta G_4}{RT}} \quad \mathbf{33.}$$

Sendo que $\Delta G_1 = G_2 - G_1$ e assim sucessivamente para as outras energias livres.

Como a soma das concentrações de cada conformação dá a população total:

$$[M_1] + [M_2] + [M_3] + [M_4] + [M_5] = 1 \quad \mathbf{34.}$$

Portanto, para se calcular a concentração da conformação M_1 :

$$[M_1] = \frac{1}{1 + K_1 + K_2 + K_3 + K_4} \quad \mathbf{35.}$$

E uma vez que a constante de equilíbrio é descrita como a divisão do produto sobre reagente, é possível calcular também a concentração das outras conformações como demonstrado a seguir:

$$[M_2] = [M_1] \times [K_1] \quad \mathbf{36.}$$

$$[M_3] = [M_1] \times [K_2] \quad \mathbf{37.}$$

$$[M_4] = [M_1] \times [K_3] \quad \mathbf{38.}$$

$$[M_5] = [M_1] \times [K_4] \quad \mathbf{39.}$$

3.7 Metodologia de Execução

Primeiramente realizou-se otimização de geometria e análise vibracional para as moléculas da série MSO e MSP apresentadas na Figura 4, para isto foi utilizado o *software* Gaussian 09⁸³ usando método de cálculo DFT⁸⁷, com função de base do tipo: 6-31g(d,p)¹⁰⁰ e o funcional M06-2X¹⁰¹, este funcional foi escolhido, pois foi desenvolvido para moléculas orgânicas e também pela experiência e resultados obtidos pelo grupo utilizando o mesmo.

Em seguida feita a análise conformacional, utilizando método de busca sistemática, onde se variou os diedros das moléculas, θ e φ definidos na Figura 7. Para este cálculo utilizou-se um número de passos para cada molécula de 35, no qual os diedros θ e φ foram rotacionados de 10 em 10 graus.

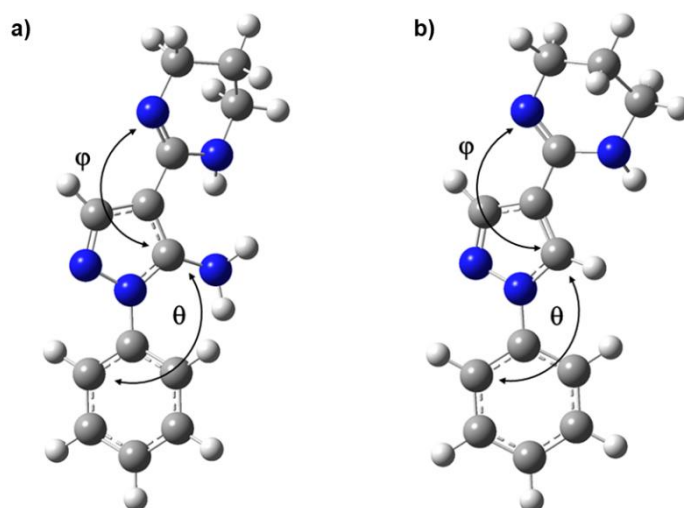
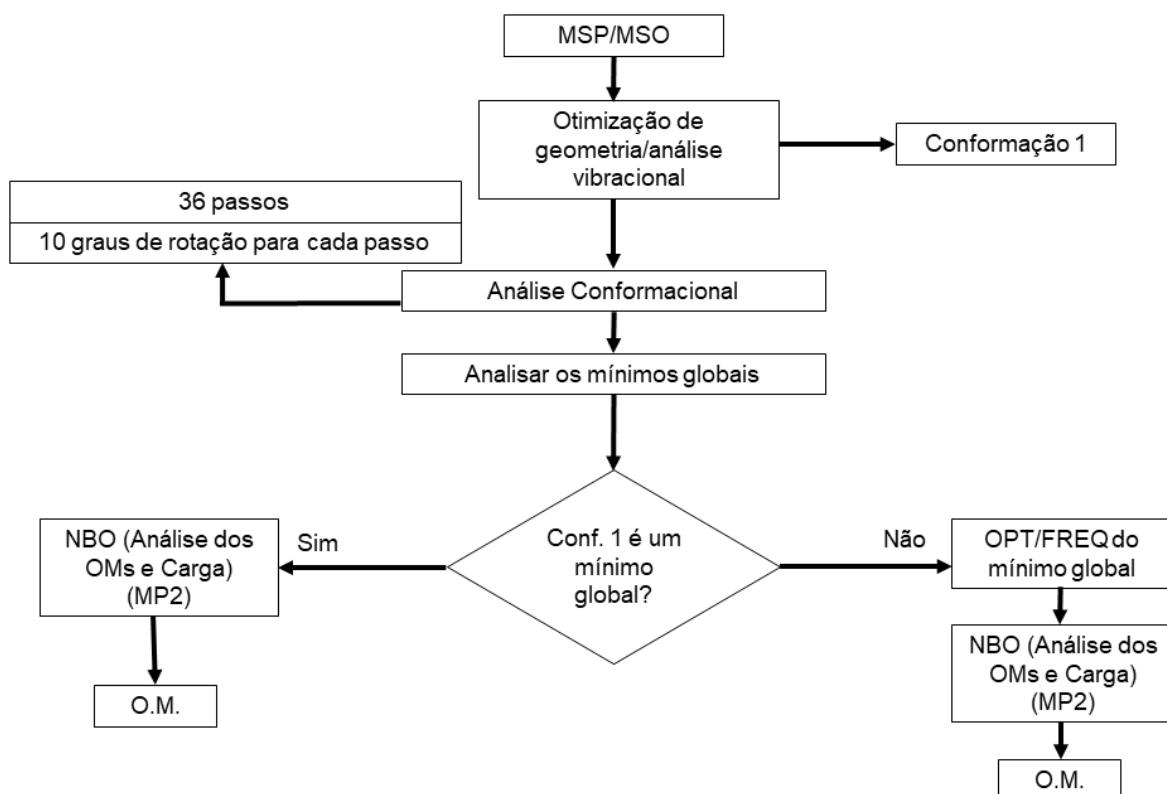


Figura 7: Representação dos diedros θ e φ das moléculas MSO01 e MSP01.

Importante notar que as rotações realizadas no anel superior, o tetrahidropirimidina, farão com que aconteça diferentes interações com o grupo NH₂ do anel pirazólico nas moléculas da série MSO e diferentes interações com os hidrogênios nas moléculas da série MSP. Podendo fazer com que a molécula fique mais estável ou não dependendo da geometria que irá possuir.

A seguir, no Esquema 1, está representado a ordem de execução do trabalho.



Esquema 1: Fluxograma representando a ordem de execução deste trabalho.

Ao todo foram obtidas 1296 conformações para cada molécula. Posteriormente analisou-se os mínimos das superfícies de energia potencial geradas, e então, com o mínimo global realizou-se cálculo de otimização de geometria e análise vibracional. Caso o mínimo global coincidissem com a estrutura de partida estes cálculos não eram necessários, uma vez que ela estava otimizada, como é possível observar no Esquema 1.

Verificou-se também a população dos conformeros para cada uma das moléculas, no qual analisou-se alguns mínimos da superfície de energia potencial. Destes mínimos realizou-se cálculos de otimização de geometria e análise vibracional para obter a energia livre de Gibbs de cada conformação e então, a partir dos cálculos demonstrados na seção 3.6 obteve-se a população dos conformeros.

Em seguida realizou-se cálculos do tipo NBO (*Natural Bond Orbital*)⁸⁷, na conformação de mínimo global da SEP, e obteve-se as cargas dos átomos das moléculas. Em seguida, no mesmo procedimento, foi realizada a análise dos orbitais moleculares para as moléculas em estudo. Porém, para realizar os cálculos do tipo NBO, na obtenção das energias dos orbitais moleculares, utilizou-se metodologia MP2 e função de base do tipo 6-31G(d,p) e para o mapa de potencial eletrostático

das moléculas também se utilizou desta metodologia, sendo possível comparar as moléculas da mesma série, em relação aos orbitais de fronteira, por exemplo

A partir da energia dos orbitais HOMO, orbital ocupado de mais alta energia, e LUMO, orbital desocupado de mais baixa energia, foi possível determinar diversos parâmetros químicos que são considerados importantes para explicar a atividade biológica⁸³⁻⁸⁵. Parâmetros como: energia de ionização (I), afinidade eletrônica (A), diferença de energia entre HOMO e LUMO (E_{GAP}), dureza (η) e maciez (σ) absoluta, eletronegatividade global (χ), potencial químico (μ), índice de eletrofilicidade (ω) e nucleofilicidade (N), que estão representado a seguir^{88,102,104-108}:

$$I = -E_{HOMO} \quad 40.$$

$$A = -E_{LUMO} \quad 41.$$

$$E_{GAP} = E_{LUMO} - E_{HOMO} \quad 42.$$

$$\eta = \frac{I - A}{2} \quad 43.$$

$$\sigma = \frac{1}{\eta} \quad 44.$$

$$\chi = \frac{|I + A|}{2} \quad 45.$$

$$\mu = -\chi \quad 46.$$

$$\omega = \frac{\mu^2}{2\eta} \quad 47.$$

$$N = \frac{1}{\omega} \quad 48.$$

Essas equações, reforçam a importância em descrever corretamente os orbitais de fronteira, o orbital molecular ocupado de mais alta energia (HOMO) e o orbital molecular desocupado de mais baixa energia (LUMO), que geralmente estão envolvidos nos mecanismos de reações químicas¹⁰⁹. A dureza e maciez das moléculas podem ajudar a determinar uma melhor atividade biológica, uma vez que células, enzimas, proteínas, entre outras estruturas biológicas são macias¹⁰², portanto, preferencialmente irão interagir com moléculas macias. Além disso moléculas duras possuem uma diferença de energia entre HOMO e LUMO (E_{GAP}) maior que as moléculas macias, o que as tornam menos reativas, pois isto está associado com estabilidade^{109,110}. Já a eletronegatividade está relacionada com a

facilidade dos átomos que fazem parte de uma ligação covalente em atrair elétrons⁸⁸.

Os índices de eletrofilicidade e nucleofilicidade descrevem a reatividade das moléculas¹⁰³. Além desses parâmetros calculados, interpretação da região de densidade eletrônica, dos orbitais moleculares e mapas de potenciais eletrostáticos, por exemplo, também podem ajudar a determinar sítios ativos das moléculas.

Contudo a atividade biológica não pode ser determinada com um único parâmetro, torna-se necessário a combinação destes, dependendo ainda de propriedades geométricas e eletrônicas da molécula^{88,102}. Tendo isto em vista, uma vez que esses parâmetros químicos apresentados anteriormente são obtidos é possível relacioná-los em uma equação, como um modelo de QSAR¹¹¹, como a apresentada a seguir:

$$P_i = k_1(D_1) + k_2(D_2) + \dots + k_n(D_n) \quad 49.$$

Nesta equação P_i é a propriedade biológica de interesse, D_n são as propriedades estruturais, também denominadas de descritores, calculadas. Por fim, k_n é um peso definido pelo algoritmo computacional e atribuído aos descritores. Para este trabalho a propriedade biológica de interesse foi o IC_{50} , que é a metade da concentração inibitória máxima de determinado composto em uma população⁵³ e para conseguir otimizar os coeficientes k_n para minimizar o erro quadrado entre o IC_{50} experimental e teórico, utilizou-se a ferramenta de solução de problema do Excel.

Outra propriedade muito importante quando está se discutindo atividade biológica de fármacos é o coeficiente de partição, LogP , apresentado anteriormente na equação 22. E a importância desse coeficiente é porque, quando ele é calculado, se utiliza como solventes neste modelo 1-octanol/água para saber o quanto seu soluto (fármaco) estará distribuído nessas fases. E isto é interessante, uma vez que é um bom modelo para simular sistemas biológicos, como o organismo humano, por exemplo, já que existem estruturas apolares, como as membranas celulares, que são representados pelo modelo 1-octanol e também soluções aquosas, como o plasma sanguíneo, que é representado pela fase aquosa¹¹².

Portanto, para se obter o LogP é necessário realizar cálculos de otimização e análise vibracional das moléculas em estudo nesses solventes. A partir do ciclo termodinâmico apresentado na Figura 5 se torna possível descobrir a energia livre

da molécula em cada um desses solventes e então utilizando a equação⁹² 50 calcula-se o LogP teórico.

$$\text{LogP} = - \frac{(\Delta G_{\text{solv}} - \Delta G_{\text{hid}})}{2,303RT} \quad \mathbf{50.}$$

Este cálculo foi realizado a uma temperatura (T) em 298,15 K, sendo que ΔG_{solv} é o valor da energia livre em 1-octanol e ΔG_{hid} na água. R é a constante universal dos gases. Utilizando nível de cálculo DFT e metodologia SMD, com o funcional M06-2X e função de base do tipo 6-31G(d,p).

4. CAPÍTULO 4
RESULTADOS E DISCUSSÕES

Neste capítulo serão apresentados os resultados obtidos tanto para a série de moléculas MSO quanto para a série MSP, estas que foram apresentadas no Capítulo 1. As análises dos resultados foram feitas, principalmente, realizando uma comparação entre as moléculas da mesma série e para alguns resultados obtidos, como a região de densidade eletrônica para os orbitais de fronteira, HOMO e LUMO, e também valores para ajudar na compreensão da atividade biológica, como LogP. E no final do capítulo é mostrado um modelo de QSAR desenvolvido a fim de se obter valores de IC₅₀ teórico para essas moléculas.

4.1 Análise da série MSO

Nesta seção será discutido os resultados obtidos para as moléculas da série MSO, representadas na Figura 8:

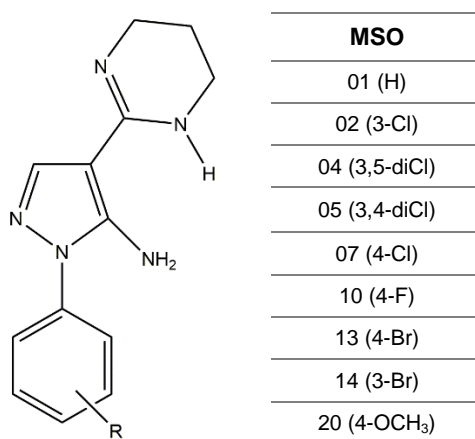


Figura 8: Substâncias da série MSO.

Primeiramente realizou-se cálculos de otimização de geometria e análise vibracional para essa série de moléculas no nível DFT, utilizando função de base 6-31G(d,p) e funcional M06-2X, as estruturas mais estáveis obtidas são apresentadas a seguir:

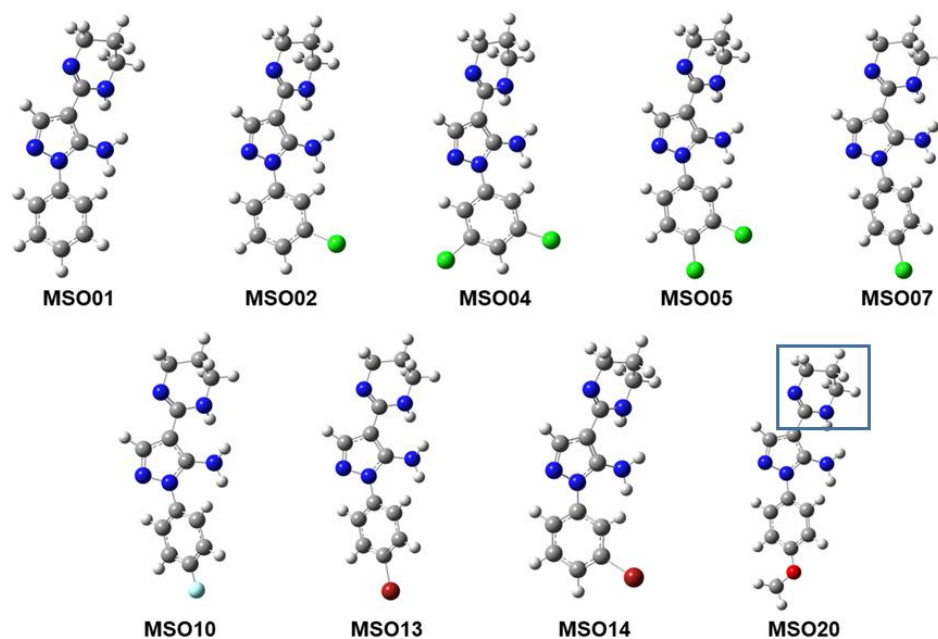


Figura 9: Estruturas otimizadas da série MSO. Na MSO20 está representado o anel 1,4,5,6-tetrahidropirimidínico (TIP).

Para todas as estruturas de mínimos de energia obtidas para as moléculas da série MSO é possível observar que considerando o anel 1,4,5,6-tetrahidropirimidínico (TIP), o hidrogênio ligado ao nitrogênio se posiciona de forma a interagir com o grupo amino do anel pirazólico. Isto provavelmente ocorre, pois nesta posição que se encontra o hidrogênio mencionado ele fica mais próximo do nitrogênio da amina, o que favorece a formação de ligação de hidrogênio intramolecular, ficando em média a uma distância 2,37 Å, estabilizando a molécula. É possível observar também que existe uma repulsão entre esse átomo de H e do hidrogênio da amina, variando a distância de 2,19 Å e 2,20 Å. Essa posição é mais energeticamente favorável do que, por exemplo, se o anel TIP estivesse rotacionado 180°. Já que para este caso haveria apenas a repulsão hidrogênio-hidrogênio.

Analisando estes cálculos ainda, nota-se que existe uma torção entre o anel benzênico e o pirazol. Esta torção irá ocorrer devido a repulsão que existe entre o hidrogênio da amina e o hidrogênio do carbono do anel benzênico que está mais próximo a amina. O que faz também com que haja uma aproximação do hidrogênio outro lado do anel benzênico com o nitrogênio do pirazol, favorecendo a formação de ligação de hidrogênio intramolecular.

Em seguida foram realizados cálculos com o intuito de se obter outras conformações das moléculas estudadas. A estrutura de partida para estes cálculos

foi a otimizada inicialmente, apresentada para cada molécula na Figura 9. Os cálculos para realizar a análise conformacional foram feitos a partir da rotação dos diedros que ligam os três anéis na molécula como apresentado na Figura 10 para a molécula de MSO01.

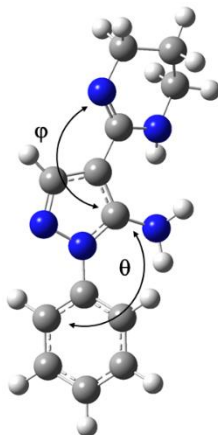


Figura 10: Representação dos diedros, ϕ e θ , que foram rotacionados para a análise conformacional.

Como citado na seção de Metodologia de Execução, para cada molécula se obteve 1296 conformações, no qual a partir da energia dessas conformações obteve-se uma superfície de energia potencial para cada molécula, se tornando possível analisar os mínimos locais e o mínimo global.

Para a molécula MSO01 a SEP está representada na Figura 11:

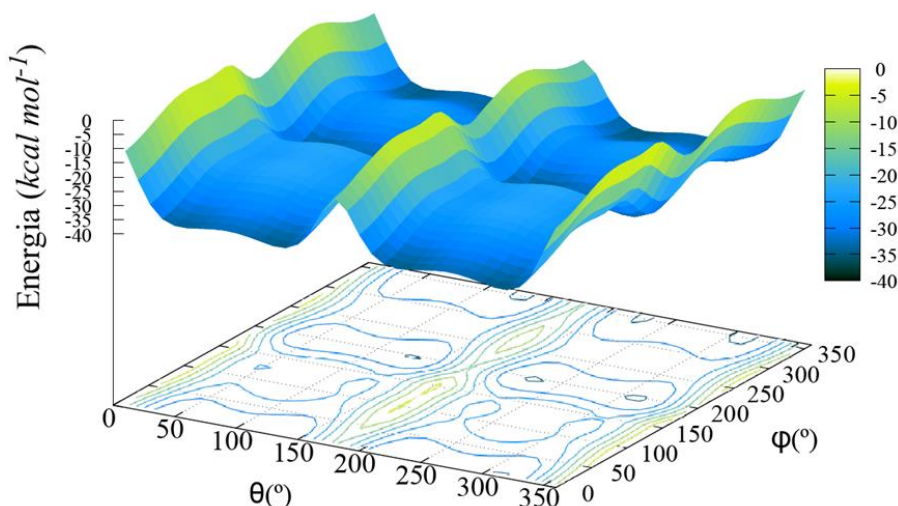


Figura 11: Gráfico da superfície de energia potencial para a molécula MSO01.

Para a superfície representada na Figura 11, analisando o mínimo global, a conformação mais estável desta molécula, é denominada de MSO01-586, o diedro ϕ tem $351,61^\circ$, enquanto $\theta = 316,40^\circ$. A energia é $35,49$ kcal/mol menor do que o máximo global, que possui energia 0 no gráfico, sendo tomado como referência.

Para esta conformação de menor energia se torna necessário o cálculo de otimização e análise vibracional, para confirmar se realmente ela é um mínimo. Portanto a estrutura da MSO01-586, já otimizada, está representada a seguir:

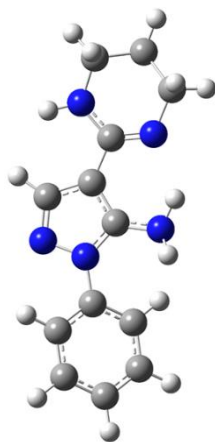


Figura 12: Conformação MSO01-586 otimizada.

Para as seguintes discussões, os átomos foram enumerados da seguinte maneira:

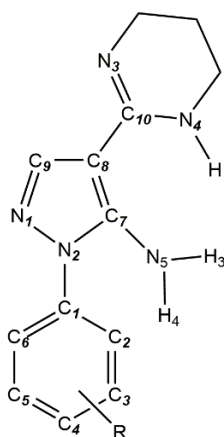


Figura 13: Identificação de alguns átomos para a molécula de MSO.

O nitrogênio do TIP que está ligado ao hidrogênio será denominado de N₄ e este hidrogênio de H₁, já o outro nitrogênio do mesmo anel será nominado como N₃. Para o anel pirazólico, o hidrogênio que está ligado diretamente ao carbono (C₉) será chamado de H₂, não representado na Figura. Os hidrogênios do grupo amino serão denominados como H₃ e H₄, sendo que, H₃ interage com o anel TIP e H₄ com o anel benzênico.

Analisando a estrutura do MSO01-586 pode perceber que houve uma rotação de aproximadamente 180° no anel TIP em relação a estrutura de partida para a análise conformacional. Esta inversão ocorreu, pois, deste modo o N₃ acaba se aproximando do H₃, favorecendo a formação de ligação de hidrogênio. Em relação a estrutura de partida este nitrogênio fica mais próximo de um hidrogênio do

anel pirazólico na conformação MSO01-586, cerca de 0,83Å, o que favorece energeticamente a estrutura.

Outro fato que torna a MSO01-586 mais estável do que a estrutura de partida é que a repulsão hidrogênio-hidrogênio que existe é menor. Para a MSO01-1 essa repulsão é entre o H₁ e H₂, já para a estrutura de partida essa repulsão era entre o H₁ e H₃, a distância entre os hidrogênios que sofrem repulsão aumentou cerca de 0,06Å e isto também ajuda na estabilização desta conformação de menor energia, uma vez que a distância é maior e, conseqüentemente, a repulsão será menor, porém, este valor tão pequeno da distância entre os hidrogênios também causa em uma diferença energética muito pequena de 0,1 kcal/mol.

Será discutido também o cálculo para análise conformacional da molécula MSO02, pois é um pouco diferente da MSO01, já para as outras moléculas da série MSO não será apresentado os gráficos da SEP, pois se tornará muito repetitivo a discussão destes resultados. Os mesmos diedros representados na Figura 4 para o MSO01, foram rotacionados para a MSO02 e também se obteve a SEP, demonstrado na Figura 14:

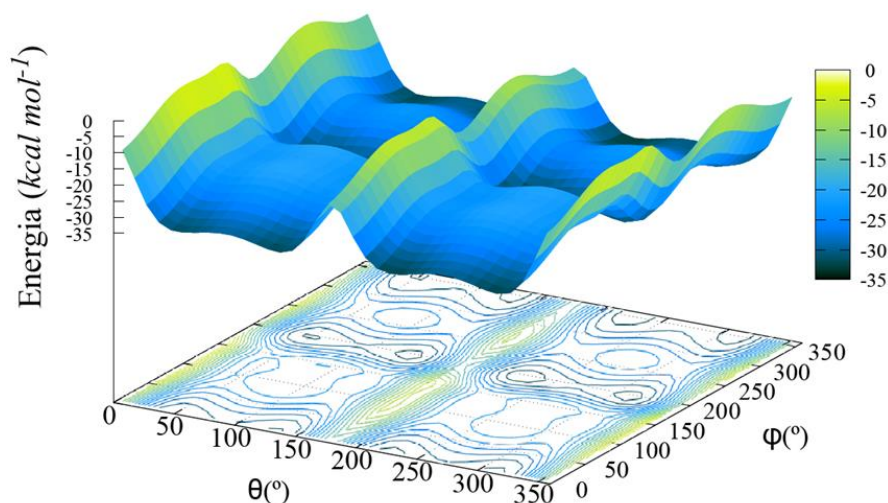


Figura 14: Gráfico da superfície de energia potencial para a molécula MSO02.

Para este caso a estrutura mais estável será denominada de MSO02-1, pois, esta estrutura foi a mesma que a de partida, no qual o diedro ϕ possui 196° e o diedro θ , 224°, sendo 33,28 kcal/mol mais estável que o máximo global, novamente tomado como referência e possuindo energia 0 na SEP. Esta estrutura mais estável é representada isoladamente na Figura 15:

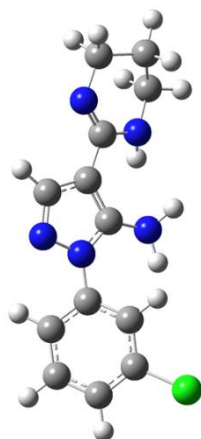


Figura 15: Estrutura da MSO02-1 otimizada.

Para esta molécula não foi necessário realizar novamente o cálculo de otimização e análise vibracional, assim como foi feito para a MSO01-586, uma vez que ela é a estrutura de partida e já estava otimizada. Esta conformação é a mais estável pois a geometria contribui para formação de ligações de hidrogênio. Favorecendo mais do que caso o anel TIP estivesse rotacionado cerca de 180° , como foi para a MSO01. E possivelmente o principal motivo para isso é devido as interações entre o N₄, H₁, H₃ e o nitrogênio da amina, para o qual essas interações serão favorecidas geometricamente que irão estabilizar ainda mais a molécula. Entretanto, a diferença energética entre essa conformação da MSO02-1 e da conformação da MSO02 de quando ocorre a rotação do anel TIP em cerca de 180° , é muito baixa, aproximadamente 0,29 kcal/mol. Sendo que quando ocorre essa rotação do anel TIP essa conformação pode ser considerada um mínimo local na SEP.

É importante ressaltar, que para as outras moléculas, a partir da análise das SEP, somente para a MSO05 que a estrutura de partida foi a mais estável também. As estruturas mais estáveis obtidas a partir da análise conformacional das moléculas da série MSO são representadas a seguir:

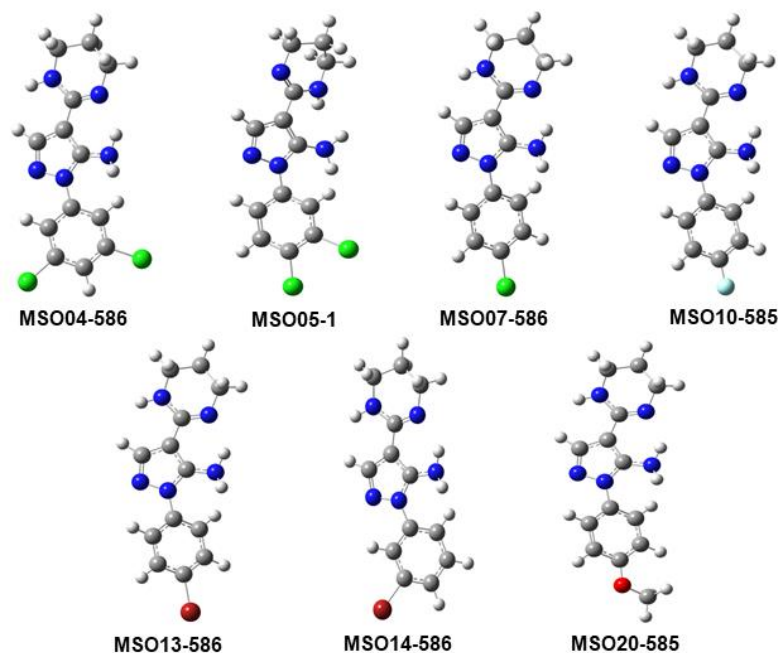


Figura 16: Conformações mais estáveis otimizadas para as moléculas da série MSO.

Para as conformações mais estáveis somente para a MSO05-1 não precisou realizar cálculos de otimização de geometria e análise vibracional, pois, por ser a conformação de partida, já estava otimizada. Para as outras conformações a distância entre o N₃ e o H₃ variou entre 2,02 a 2,05Å e talvez isto fez com que essas conformações ficassem mais estáveis.

Logo, uma vez que se obteve as SEP e as diversas conformações que existem para cada uma das moléculas que compõem a superfície, se torna possível realizar a análise populacional das conformações para cada uma dessas moléculas em estudo. Para isto os conformeros selecionados foram os de menores energia em cada um dos poços da superfície, sendo 8 ao todo como é possível observar na Figura 11 e Figura 14 para MSO01 e 02 respectivamente, importante ressaltar que para as outras moléculas da série a superfície mantém o mesmo padrão, logo, para essas 8 conformações de cada molécula, se tornou necessário realizar cálculos de otimização de geometria e análise vibracional para ser possível fazer a análise populacional.

Porém em determinados casos, mínimos diferentes são otimizados para uma conformação em comum, sendo assim, não são exatamente 8 conformações de mínimo global, uma vez que 2 ou 3 conformações diferentes são otimizadas para uma estrutura em comum.

A quantidade de cada conformação para as moléculas da série MSO estão representadas na Tabela 1, a qual também apresenta o valor de ΔG desses

confórmeros em relação ao mais estável, uma vez que este é necessário para realizar os cálculos a fim de se obter a população e as estruturas das conformações mais estáveis estão representadas na Figura 17.

Tabela 1: Energia livre de Gibbs relativa a conformação mais estável, para cada uma das moléculas da série MSO e a população conformacional destas, utilizando nível de cálculo DFT com funcional M06-2X e função de base 6-31G(d,p) e T=298,15K.

Molécula	Conformação					
	586	577	10	595	-	-
MSO01	586	577	10	595	-	-
$\Delta G(\text{kcal/mol})$	0,22	0	5,33	6,16		
Pop(%)	51,07	48,91	0	0		
MSO02	586	604	560	28	20	1
$\Delta G(\text{kcal/mol})$	0	0,44	0,83	6,16	6,92	7,33
Pop(%)	45,74	42,99	11,27	0	0	0
MSO04	586	10	19	-	-	-
$\Delta G(\text{kcal/mol})$	0	5,85	6,96			
Pop(%)	100%	0	0			
MSO05	577	586	596	19	28	1
$\Delta G(\text{kcal/mol})$	0,27	0	0,66	5,56	6,07	7,17
Pop(%)	47,41	39,63	12,95	0	0	0
MSO07	604	577	10	1	-	-
$\Delta G(\text{kcal/mol})$	0	0,19	5,62	6,41		
Pop(%)	58,09	41,91	0	0		
MSO10	595	9	1	577	-	-
$\Delta G(\text{kcal/mol})$	0	5,56	6,23	27,4		
Pop(%)	100	0	0	0		
MSO13	586	596	10	1	-	-
$\Delta G(\text{kcal/mol})$	0	0,52	5,90	6,90		
Pop(%)	70,58	29,43	0	0		
MSO14	586	577	595	28	10	19
$\Delta G(\text{kcal/mol})$	0,14	0	0,42	5,53	5,91	6,92
Pop(%)	49,5	33,89	16,61	0	0	0
MSO20	595	585	9	27	19	1
$\Delta G(\text{kcal/mol})$	0,44	0	5,43	5,65	6,23	6,54
Pop(%)	57,73	42,27	0	0	0	0

As estruturas das conformações de maior população estão representadas na Figura 17:

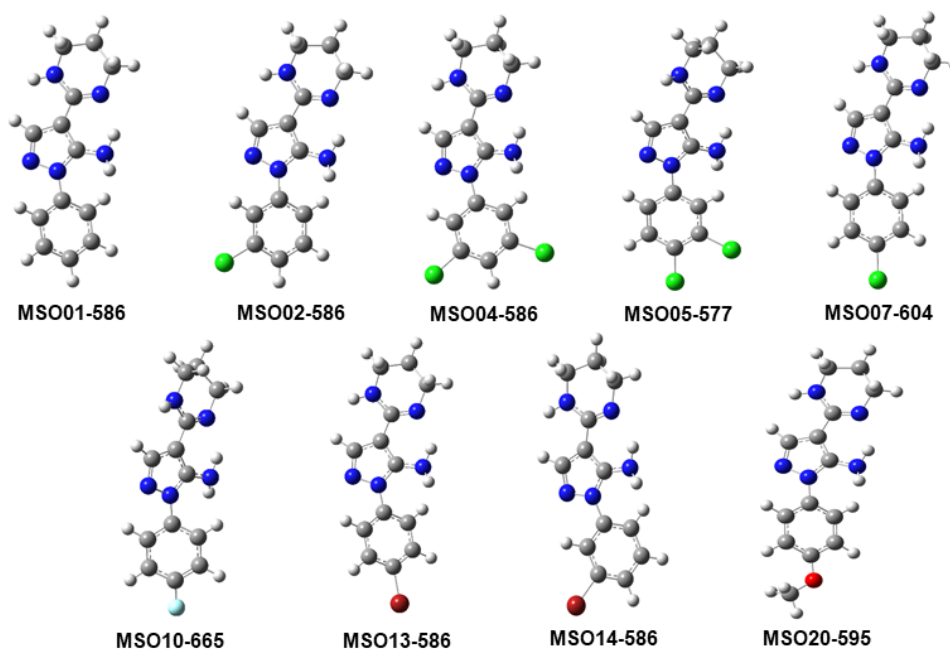


Figura 17: Estruturas das conformações para as moléculas da série MSO que apresentaram a maior população.

Como descrito anteriormente em algumas moléculas apresentaram uma menor quantidade de conformações apresentadas na Tabela 1, como por exemplo a MSO04, pois algumas conformações apresentavam o mesmo valor para energia livre e isto acontece, pois, ao encontrar a estrutura mais estável para estas conformações elas foram para o mesmo caminho de mínimo de energia, possuindo a mesma estrutura, logo a população para essas conformações será o somatório de ambas.

E isto aconteceu para todas as moléculas da série MSO, como se tinha 8 poços de mínimo de energia se esperava analisar 8 conformações diferentes, porém se obteve destes mínimos, no máximo, 6 conformações diferentes.

Por fim, é interessante notar que em algumas moléculas (MSO02, 05 e 20) a conformação que apresentou a maior população foi diferente daquela de menor energia na SEP, é importante destacar isto pois os cálculos realizados em sequência como as energias dos orbitais moleculares, foram feitos todos para a conformação que foi o mínimo de energia na SEP e não aquela de maior população, devido a ordem cronológica da obtenção dos resultados. E essa divergência entre a conformação que apresentou a maior população com o mínimo na SEP se deve ao fato de que ao realizar o cálculo para se obter a superfície de energia potencial,

partiu-se de uma estrutura, denominada conformação 1 que já estava otimizada, sendo um mínimo de energia, porém, para todas as outras conformações obtidas na SEP foram forçadas a possuir a estrutura que apresentava a energia na SEP, logo ao otimizar alguns mínimos da SEP é bem provável que estes tenham sua energia estabilizada ainda mais. Portanto, quando esses mínimos foram otimizados, as energias deles ficaram menores, e em alguns casos, menor inclusive do que a conformação de mínimo na SEP, apresentando um G menor e por consequência uma maior população.

Em seguida realizou-se cálculos do tipo NBO para se obter as cargas dos átomos, utilizando as conformações de mínimos globais na SEP apresentados na Figura 12, Figura 15 e Figura 16, sendo que em alguns casos essas não foram a de maior população, como discutido anteriormente. Para se discutir as cargas, a fim de entender os pontos de maior densidade de carga e possibilidades de previsão de mecanismos futuros de reação, identificou-se alguns átomos das moléculas de MSO, como representado a seguir:

A Tabela 2, mostra as cargas em relação a alguns átomos de carbono das moléculas desta série.

Tabela 2: Valores das cargas, em Debye, para os átomos de carbono para as moléculas da série MSO, utilizando a metodologia MP2 e função de base 6-31G(d,p).

MSO	R	C ₁	C ₃	C ₄	C ₅	C ₇	C ₈	C ₉	C ₁₀
01	H	0,137	-0,225	-0,231	-0,226	0,386	-0,24	-0,051	0,436
02	3-Cl	0,155	-0,043	-0,245	-0,209	0,347	-0,223	-0,015	0,419
04	3,5-diCl	0,168	-0,034	-0,268	-0,034	0,385	-0,233	-0,045	0,435
05	3,4-diCl	0,151	-0,071	-0,076	-0,226	0,348	-0,222	-0,014	0,419
07	4-Cl	0,134	-0,243	-0,05	-0,244	0,385	-0,237	-0,043	0,435
10	4-F	0,127	-0,29	0,423	-0,292	0,385	-0,238	-0,051	0,436
13	4-Br	0,136	-0,241	-0,124	-0,242	0,385	-0,236	-0,049	0,436
14	3-Br	0,153	-0,116	-0,247	-0,212	0,385	-0,236	-0,048	0,436
20	4-OCH ₃	0,122	-0,251	0,311	-0,304	0,385	-0,241	-0,054	0,436

Em relação as cargas de alguns átomos de carbono das moléculas de MSO todas ficaram próximas quando comparadas entre si. Para os carbonos localizados no anel benzênico (C₁, C₃, C₄ e C₅), este valor apenas mudou com a presença de algum grupo substituinte ligado a estes carbonos o que ocasiona em um aumento da carga do mesmo, já que os substituintes, com exceção do H, são mais eletronegativos que o carbono. E mesmo que não esteja ligado diretamente ao carbono, o substituinte faz com que carbonos próximos também tenha seus valores

de carga alterados, geralmente estes outros carbonos próximos e que não estão ligados a um grupo substituinte possuem com uma carga mais negativa como é possível observar, por exemplo, para MSO10, quando o flúor está ligado ao C₄, faz com que este fique com uma carga mais positiva e os carbonos ligados ao C₄, que são o C₃ e C₅, acabam ficando mais negativos conseqüentemente. Para o C₁ os valores continuam todos relativamente próximos.

Já para os carbonos que fazem parte do pirazol (C₇, C₈ e C₉) todos possuem praticamente os mesmos valores para as cargas quando comparados entre si, a diferença que pode ser percebida é no carbono C₉ para as moléculas MSO02 e MSO05 que possuem um valor diferente das outras moléculas. E isto provavelmente é devido as interações intramoleculares, uma vez que, somente estas duas moléculas possuem um hidrogênio, do anel TIP, distante do carbono C₉, como discutido anteriormente para os cálculos de análise conformacional, quando se compara as moléculas MSO01 e MSO02, por exemplo, mesmo sendo uma diferença pequena é interessante nota-la, pois pode influenciar em outros resultados dependente das cargas dos átomos.

As cargas dos átomos de nitrogênio para as moléculas desta série estão mostradas na Tabela 3:

Tabela 3: Valores das cargas, em Debye, para os átomos de nitrogênio para as moléculas da série MSO, utilizando a metodologia MP2 e função de base 6-31G(d,p).

MSO	R	N ₁	N ₂	N ₃	N ₄	N ₅
01	H	-0,286	-0,196	-0,567	-0,671	-0,875
02	3-Cl	-0,282	-0,207	-0,504	-0,705	-0,886
04	3,5-diCl	-0,285	-0,198	-0,567	-0,669	-0,876
05	3,4-diCl	-0,283	-0,208	-0,503	-0,705	-0,885
07	4-Cl	-0,286	-0,197	-0,567	-0,67	-0,876
10	4-F	-0,287	-0,197	-0,567	-0,671	-0,876
13	4-Br	-0,286	-0,197	-0,568	-0,669	-0,876
14	3-Br	-0,285	-0,198	-0,569	-0,669	-0,876
20	4-OCH ₃	-0,286	-0,195	-0,569	-0,671	-0,876

Para as cargas nos átomos de nitrogênio nas moléculas de MSO, é possível observar que possuem valores muito próximos entre si, assim como acontecia para os átomos de carbono, porém existem algumas diferenças nos valores para as moléculas MSO02 e MSO05. Isto também deve acontecer justamente pelos valores discrepantes do valor do diedro entre o anel pirazólico e o TIP. Como é possível

observar os valores do N_3 e N_4 para as moléculas de MSO02 e MSO05 possuem valores diferentes em relação as outras moléculas, uma vez que estes dois átomos de nitrogênio ficam em posições diferentes em relação as outras como discutido anteriormente. Em relação ao anel TIP nestas duas moléculas o diedro apresenta 180° de diferença das outras moléculas da série MSO, e possivelmente este posicionamento diferente dos átomos causa esta discrepância de valor das cargas.

Por fim, analisando as cargas dos substituintes nas moléculas da série MSO, as cargas para os átomos de cloro e de bromo são relativamente próximas, ficando entre 0,011 a 0,047 Debye para os cloros e 0,075 Debye para os bromos. Já para os átomos de flúor e oxigênio este valor é diferente, sendo um valor maior e negativo, para o flúor o valor foi de -0,336 Debye e para o oxigênio -0,525 Debye. Isto pode ser explicado pelo fato do flúor e oxigênio serem mais eletronegativos, o que faz com que dificulte estes átomos de cederem seus elétrons, seja para a deslocalização eletrônica que pode existir no anel em que estão ligados ou para os nitrogênios dos anéis superiores, logo estes grupos substituintes (F e O), conseqüentemente, acabam ficando com um valor mais negativo do que os outros grupos.

Em seguida foi analisado os orbitais moleculares das moléculas desta série a partir das regiões de densidade eletrônica dos orbitais obtidas. Para verificar se existe degenerescência entre os orbitais, foram analisados desde o orbital HOMO-2 até o LUMO +2 nos diagramas de energia. Para a molécula MSO01, este diagrama está representado na Figura 18:

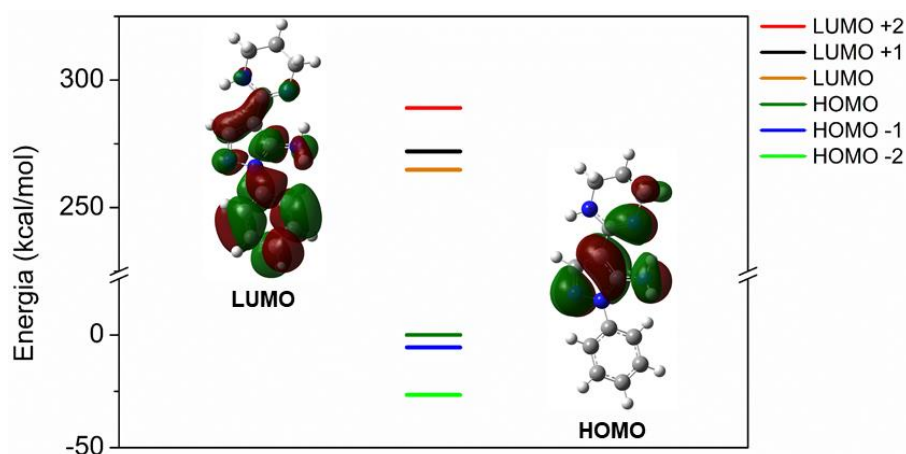


Figura 18: Diagrama de energia para os orbitais moleculares de fronteira da molécula MSO01, utilizando a metodologia MP2 e função de base 6-31G(d,p), com isovalor de 0,02u.a.

Analisar os orbitais moleculares de fronteira é algo muito importante, pois, como discutido anteriormente, a partir destes é possível se obter diversos parâmetros para as moléculas, quando se considera as energias e as simetrias das regiões de densidade eletrônica. Para a molécula MSO01 é possível observar que a degenerescência dos orbitais não ocorre, observando os orbitais HOMO-2, HOMO-1 e HOMO e LUMO, LUMO+1 e LUMO+2. Talvez fosse esperado que ocorresse pela molécula apresentar várias ligações conjugadas, uma vez que a conjugação é favorecida por níveis degenerados, por isso analisou-se todos estes orbitais. Observando as regiões de densidade eletrônica nota-se que para o HOMO não tem densidade no anel benzênico, porém grande parte da densidade do LUMO está concentrada nesta área. Este resultado é interessante, pois, caso essa molécula realize um ataque eletrofílico essa região do anel benzênico não estará envolvida, porém caso receba este tipo de ataque provavelmente será esta região que estará envolvida. A análise dos orbitais juntamente com o mapa de potencial eletrostático, que será apresentado mais adiante, ajuda a entender melhor a reatividade delas. A seguir está representado os orbitais moleculares para todas as moléculas de MSO:

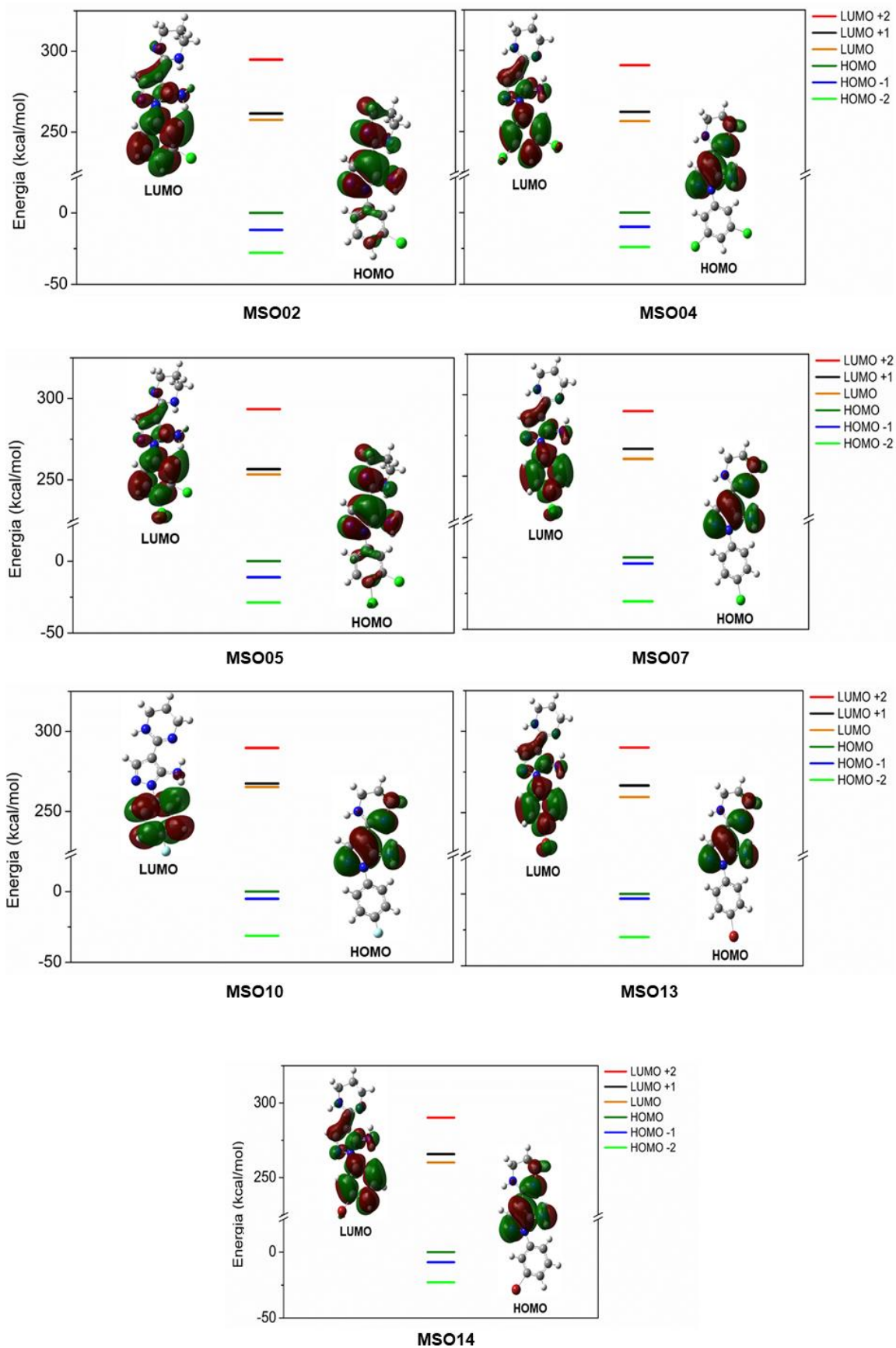


Figura 19: Diagrama de energia dos orbitais moleculares de fronteira para as moléculas da série MSO, utilizando a metodologia MP2 e função de base 6-31G(d,p), com isovalor de 0,02u.a.

Analisando os orbitais moleculares para as moléculas de MSO, como foi feito para a MSO01, é possível perceber que elas mantêm praticamente o mesmo padrão em relação ao HOMO e LUMO, onde existe pouca ou nenhuma densidade eletrônica no anel benzênico delas quando se trata do HOMO. Para as moléculas MSO02 e MSO05, a conformação de partida é a mais estável na superfície de energia potencial, é possível observar, que por mais que sejam pequenas, as regiões de densidade eletrônica no anel benzênico estão presentes. O que pode se inferir que a posição que o anel 1,4,5,6-tetraidropirimidínico estiver, estará influenciando a densidade eletrônica no anel benzênico. A maior diferença em relação a região de densidade eletrônica para os orbitais moleculares de fronteira foi para a molécula MSO20, que está representado a seguir:

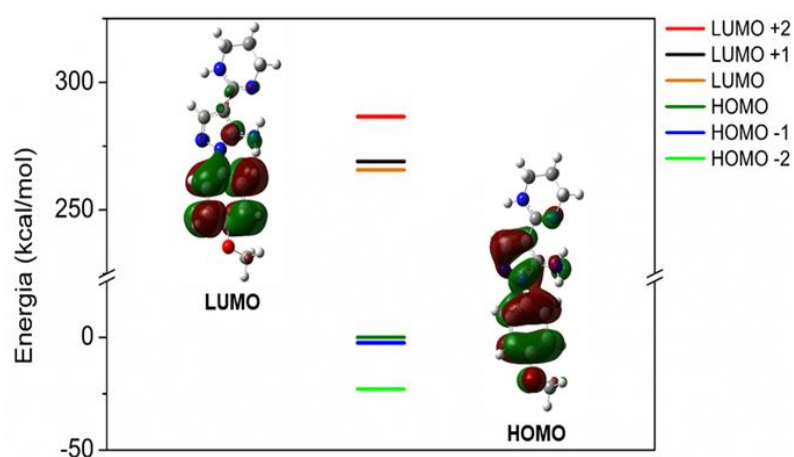


Figura 20: Diagrama de energia para os orbitais moleculares de fronteira da molécula MSO20, utilizando a metodologia MP2 e função de base 6-31G(d,p), com isovalor de 0,02u.a.

Para esta molécula existe uma região de densidade eletrônica no anel benzênico. E isto acontece, pois, neste caso o grupo metóxi irá participar da deslocalização eletrônica que irá ocorrer no anel benzênico, algo que não acontecia para as outras moléculas da série, o que pode influenciar caso esta molécula interaja com outras, uma vez que esta região poderá participar de reações químicas.

Em seguida analisou-se os mapas de potencial eletrostático para estas moléculas com o intuito de verificar a polarização de cargas, a Figura 21 mostra o MPE para a molécula MSO01, onde o potencial mais negativo é indicado por uma coloração mais avermelhada e o potencial mais positivo é indicado por uma coloração mais azulada.

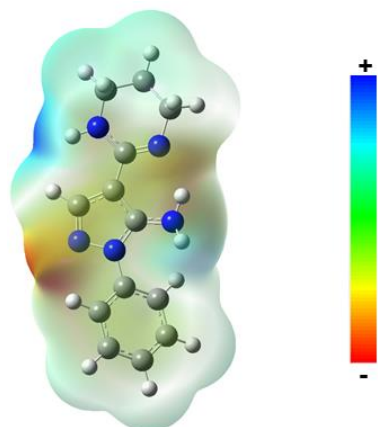


Figura 21: Mapa de potencial eletrostático da MSO01-0, utilizando a metodologia MP2 e função de base 6-31G(d,p), com isovalor de 0,0004u.a.

Analisando o MPE para esta molécula, é possível notar uma maior concentração de carga negativa nos átomos de nitrogênio, conforme esperado, uma vez que este, por ser mais eletronegativo em comparação com os outros átomos da mesma molécula. Sendo possível observar também que o hidrogênio ligado ao nitrogênio no anel TIP, possui uma alta concentração de carga positiva, já que o nitrogênio está retirando a densidade eletrônica deste hidrogênio e deixando-o mais positivo.

Esta análise do MPE é importante também para conseguir racionalizar, por exemplo, em quais regiões desta molécula ocorrerão interações químicas com outros grupos. Caso ela interaja com algum grupo doador de densidade eletrônica, este provavelmente, irá preferir interagir nas regiões mais azuladas do MPE e caso interaja com algum grupo retirador de densidade eletrônica, este provavelmente, irá preferir interagir nas regiões mais avermelhadas indicadas pelo MPE. Sendo que é necessário levar em consideração alguns fatores para saber também onde será o melhor local para interação, como por exemplo, efeitos estéricos.

Os outros mapas de potencial eletrostático para as moléculas da mesma série estão representados na Figura 22.

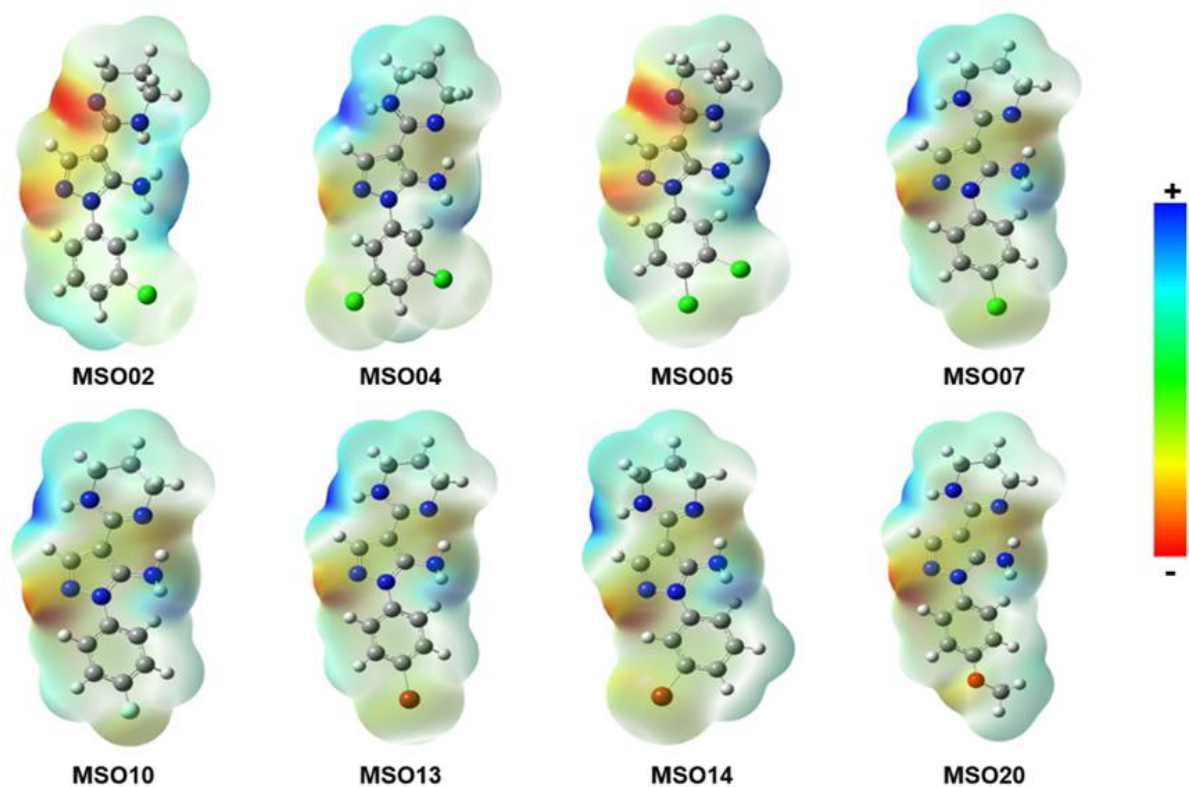


Figura 22: Mapas de potencial eletrostático para as moléculas da série MSO, utilizando a metodologia MP2 e função de base 6-31G(d,p), com isovalor de 0,0004u.a.

É possível perceber que para quase todas as moléculas seguem a mesma distribuição de densidade eletrônica da MSO01, o que vai mudar vai ser principalmente em relação ao anel benzênico ao se trocar o grupo substituinte. Como por exemplo, quanto mais eletronegativo for este grupo uma maior concentração de carga negativa estará próxima a ele.

Nota-se também que na molécula MSO20, o átomo de oxigênio do grupo metóxi, possui uma maior concentração de carga negativa do que o flúor da MSO10, por exemplo, porém o flúor é mais eletronegativo que o átomo de oxigênio, mas essa maior concentração de carga negativa ao redor do oxigênio pode ser devido ao grupo alquila, que está ligado a ele, doar densidade eletrônica e também devido ao par de elétrons não ligantes presente no oxigênio.

Já para as moléculas MSO02 e MSO05 essa distribuição de densidade eletrônica encontra-se diferente das demais. Pelo fato do anel TIP estar rotacionado diferentemente das outras moléculas, o que irá causar em interações e repulsões diferentes. E isto fica visível ao analisar os dois nitrogênios deste anel. Uma vez que o N₃ fica menos favorecido a formar ligação de hidrogênio com os hidrogênios do grupo amino, que é o que acontece para as outras moléculas, logo o N₃ fica com

uma densidade eletrônica próxima a ele mais negativa do que para as outras moléculas.

Outra diferença notável é em relação ao N₁ (para a MSO02 quanto para a MSO05) possuir uma maior concentração de densidade negativa, e isto deve estar relacionado com o fato do N₃ não estar interagindo com o H₄ como acontece nas outras moléculas em relação ao N₄ e H₄, entre os quais observa-se uma maior interação. Por isso, com uma menor interação entre o N₃ e H₄ este hidrogênio irá ficar mais positivo e o N₁ fique mais negativo para haver uma menor repulsão.

Como mencionado anteriormente, a partir da energia do HOMO e LUMO é possível obter diversos parâmetros das moléculas afim de entender um pouco melhor a reatividade das mesmas entre outras propriedades.

Tabela 4: Parâmetros químicos calculados para as moléculas da série MSO no nível MP2.

	MSO01	MSO02	MSO04	MSO05	MSO07	MSO10	MSO13	MSO14	MSO20
I (eV)	8,03	8,26	8,36	8,36	8,21	8,14	8,21	8,19	7,87
A (eV)	-3,46	-2,91	-2,76	-2,62	-3,09	-3,36	-3,05	-3,09	-3,76
E_{gap} (eV)	11,48	11,17	11,12	10,98	11,30	11,51	11,26	11,28	11,64
η (eV)	5,74	5,58	5,56	5,49	5,65	5,75	5,63	5,64	5,82
σ (eV⁻¹)	0,17	0,18	0,18	0,18	0,18	0,17	0,18	0,18	0,17
χ (eV)	2,29	2,67	2,80	2,87	2,56	2,39	2,58	2,55	2,05
μ (eV)	-2,29	-2,67	-2,80	-2,87	-2,56	-2,39	-2,58	-2,55	-2,05
ω (eV)	0,45	0,64	0,70	0,75	0,58	0,50	0,59	0,58	0,36
N (eV⁻¹)	2,20	1,56	1,42	1,33	1,73	2,01	1,69	1,73	2,76

A partir destes parâmetros é possível relaciona-los com o IC₅₀ experimental dessas moléculas, por exemplo. E também se torna possível comparar propriedades, como por exemplo, dureza, eletronegatividade, nucleofilicidade, entre outros fatores.

A molécula que apresenta a maior diferença energética entre HOMO e LUMO (E_{GAP}) é a MSO20, fazendo com que ela seja a menos reativa, já que isso a faz mais estável¹⁰⁷, pois a reatividade da molécula diminui com um valor maior de E_{GAP}. Conseqüentemente a MSO20 também é a molécula mais dura. Em contrapartida a molécula mais macia é a MSO05 e este parâmetro é interessante, uma vez que, de acordo com a literatura estruturas biológicas são macias¹⁰² e de acordo com a teoria ácido base de Pearson^{109,113} moléculas macias preferem se ligar a outras moléculas/estruturas macias, o que leva a pensar que uma maior interação com a estrutura biológica será através da molécula mais macia.

Em relação a eletronegatividade, a molécula mais eletronegativa e conseqüentemente com menor potencial químico, é a MSO05 e isso faz com que

seja mais difícil a doação seus elétrons. O que implicará nos valores de eletrofilicidade e nucleofilicidade, e a molécula terá caráter mais eletrofílico. Porém, é interessante notar que para as moléculas da série MSO o valor de nucleofilicidade é maior do que de eletrofilicidade, o que indica uma tendência dessas moléculas se comportarem preferencialmente como um nucleófilo do que um eletrófilo. De acordo com a literatura, valores menores que 0,8 eV em relação a eletrofilicidade para as moléculas são consideradas como eletrófilos fracos¹⁰⁶. Dentre essas moléculas a que possui um melhor comportamento como nucleófilo é a MSO20, enquanto a que possui um menor caráter nucleofílico é a MSO05. Isso ocorre, pois, a MSO20 possui o maior valor em relação a energia do HOMO (-7,87 eV) o que faz com que os elétrons desta molécula estejam mais disponíveis para serem doados. Já a MSO05 possui o menor valor em relação a energia do HOMO, tornando isto mais difícil.

Estes parâmetros calculados juntamente com as figuras de região de densidade eletrônica dos orbitais moleculares e também com os MPE das moléculas, podem dar informações preliminares sobre as mesmas em relação a reatividade e atividade biológica. Podendo correlacionar esses valores com os valores de IC₅₀, uma vez que ao analisar alguns destes em conjunto se torna possível determinar um valor de IC₅₀ teórico, para estas moléculas apresentados a seguir:

Tabela 5: Valores de IC₅₀ para as moléculas de MSO.

MSO	<i>Amazonensis</i> (μM)	<i>Braziliensis</i> (μM)	Toxicidade (μM)
02 (3-Cl)	74,5 ± 24,1	>400	1404
04 (3,5-diCl)	48,5 ± 1,4	>400	359
10 (4-F)	>400	--	--
13 (4-BR)	>400	--	--

Só estão apresentados os valores das moléculas MSO02, 04, 10 e 13, pois para as restantes ainda não se tem os valores de IC₅₀. Para a espécie de *L. Amazonensis* é possível perceber que a MSO04 possui o melhor resultado, seguido pela MSO02 já a MSO10 e 13 possui valores considerados insatisfatórios. Para a espécie *L. Braziliensis* tem os valores de IC₅₀ para as moléculas MSO02 e 04 e ambas possuem valores insatisfatórios. Então foi feito a comparação dos resultados obtidos até então com estes valores de IC₅₀.

Primeiramente é interessante notar que em relação a estrutura das duas existe uma diferença na geometria, uma vez que a MSO04 possui o anel TIP

rotacionado cerca de 180° em relação ao mesmo anel da MSO02, além do fato de que a MSO04 possui um cloro a mais que a MSO02 e estas diferenças entre as estruturas já podem ocasionar em diferentes interações com estruturas biológicas o que pode interferir nos valores de IC_{50} , porém para investigar estas diferentes interações será necessário realizar cálculos de docking^{97,114,115}.

A análise dos orbitais moleculares de fronteira e dos mapas de potencial eletrostático, Figura 19 e Figura 22 respectivamente, destas moléculas é possível perceber outras diferenças. Em relação aos orbitais, essa diferença está no HOMO, no qual a MSO02 possui uma pequena região de densidade eletrônica no anel benzênico, algo que não há para o HOMO da MSO04 e isso, de certo modo, pode afetar na reatividade destas moléculas, por exemplo, na realização ataque nucleofílico, que envolve a participação no HOMO.

Em relação aos mapas de potencial eletrostático está, talvez, a maior diferença entre essas moléculas, é possível observar diferenças entre as estruturas e geometrias de ambas, já que o anel TIP estará rotacionado em diferentes ângulos e ocasionará em diferentes interações intramoleculares. Ao analisá-los é possível perceber que as concentrações de carga serão diferentes principalmente entre o anel TIP e pirazólico e isto irá afetar as interações com outras estruturas, no caso de estruturas biológicas, pode favorecer ou prejudicar estas interações.

Por fim, analisando os parâmetros químicos para estas duas moléculas, Tabela 4, nota-se que os todos os valores são próximos entre si. É possível perceber que a molécula MSO04 possui valores maiores de potencial de ionização, afinidade eletrônica, eletronegatividade e eletrofilicidade. Em contrapartida a molécula MSO02 possui um valor maior para os outros parâmetros, como em relação a estabilidade da molécula, possuindo um valor maior de E_{GAP} . Foi citado anteriormente que melhores interações ocorrem entre moléculas mais macias com estruturas biológicas. Neste caso a molécula MSO04 é mais macia que a MSO02, cerca de 0,02 eV, porém este valor é muito pequeno para justificar sozinho um melhor IC_{50} da MSO04, e como mencionado também, a junção de vários parâmetros podem explicar melhor os valores de atividades biológicas e não somente um parâmetro. E parâmetros como potencial de ionização, afinidade eletrônica e eletronegatividade, combinados com este maior valor de maciez da molécula MSO04 podem ser um indício do porque esta apresenta um melhor valor de IC_{50} para a espécie *L. Amazonensis* do que as demais moléculas da mesma série que já

tem esse dado. Mais adiante, após a análise dos resultados das moléculas de MSP, será analisado em conjunto alguns dados das duas séries de moléculas em estudo, será proposto uma equação para determinação do IC₅₀ teórico no qual esta propriedade biológica será determinada a partir de dados experimentais e também desses parâmetros químicos calculados.

Por fim, realizou-se cálculos com o intuito da determinação de LogP para essas moléculas. Para se calcular o coeficiente de partição de cada uma das moléculas, realizaram-se cálculos de otimização de geometria e análise vibracional em meio solvente, 1-octanol e também água, utilizando DFT, funcional M06-2X e função de base 6-31G(d,p) e com a metodologia SMD. Uma vez que se tenha a energia a livre dessas moléculas, se torna possível determinar o LogP. Para as moléculas da série MSO estão representadas na Tabela 6:

Tabela 6: Valores da energia livre das moléculas da série MSO em água e em 1-octanol (kcal/mol) e os respectivos valores de LogP para as moléculas em 298,15K.

Molécula	ΔG Água	ΔG 1-Octanol	LogP
MSO01	-487981,04	-487983,24	1,61
MSO02	-776368,63	-776370,58	1,42
MSO04	-1064762,09	-1064766,46	3,20
MSO05	-1064756,88	-1064759,30	1,77
MSO07	-776372,32	-776375,64	2,43
MSO10	-550237,69	-550240,41	1,99
MSO13	-2101431,31	-2101434,88	2,62
MSO14	-2101431,52	-2101434,09	1,88
MSO20	-559800,85	-559802,69	1,35

A partir dos valores obtidos de LogP para as moléculas dessa série, apresentados na Tabela 6, nota-se que elas possuem uma maior afinidade pela fase orgânica, que é representada pelo solvente 1-octanol, ou seja elas possuem uma maior lipofilicidade do que hidrofiliicidade. Pelo fato de as moléculas serem estruturalmente semelhantes os valores de LogP são próximos, como é possível observar. Para essas moléculas o maior valor, 3,20, é apresentado para a molécula MSO04. Nessa série é molécula mais lipofílica, quando se compara com a MSO05, por exemplo, nota-se que o cloro na posição 5 faz com que a MSO04 fique consideravelmente mais lipofílica do que a substituição do halogênio na posição 4 no anel benzênico, quando se tem outro cloro na posição 3.

Interessante notar que quando adicionado halogênios na posição para no anel benzênico (MSO07, 10 e 13) faz com que o valor de LogP aumenta comparado com

hidrogênio (MSO01) e quanto menos eletronegativo for o halogênio maior também será o valor de LogP que é o caso do MSO13 quando comparado com MSO07 e 10.

Quando se tem halogênios na posição meta o valor de LogP é menor quando comparado com para, como acontece para MSO02 e 14 e novamente quanto menor for a eletronegatividade do halogênio ligado ao anel benzênico maior será a lipofilicidade.

E os valores obtidos são muito interessantes, pois de acordo com a literatura existe um valor ótimo de LogP para cada molécula¹¹⁶, porém de uma forma geral um valor considerado ideal para LogP varia entre 0-5¹¹⁷, desta maneira, é mais provável que nesta faixa de LogP as moléculas possuam uma melhor absorção ou permeação nas membranas, inclusive até uma melhor biodisponibilidade oral. E todas as moléculas da série MSP possuem valores de LogP entre 0-5, sendo um resultado interessante ao imaginar estes potenciais fármacos em meio biológico¹¹², se apresentam baixo valor de LogP as moléculas tem uma baixa permeabilidade nas membranas e caso o valor seja muito alto elas apresentam uma baixa solubilidade aquosa, por isso o valor entre 0-5 é considerado ideal.

4.2 Análise da série MSP

Nesta seção serão discutidos os resultados obtidos para as moléculas da série MSP, representadas na Figura 23:

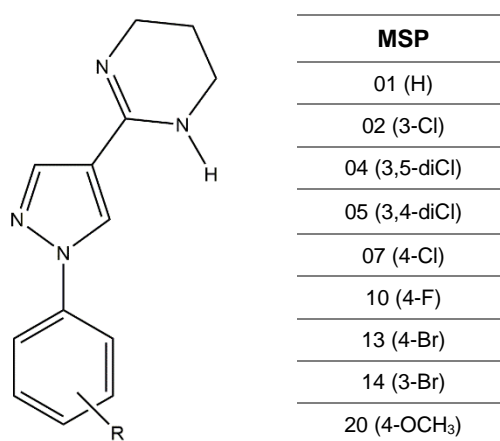


Figura 23: Substâncias da série MSP.

Assim como para as moléculas da série MSO, primeiramente foi realizado os cálculos de otimização de geometria e análise vibracional, Figura 24, porém as moléculas de MSP possuem um grupo amino, no anel pirazólico como das MSO:

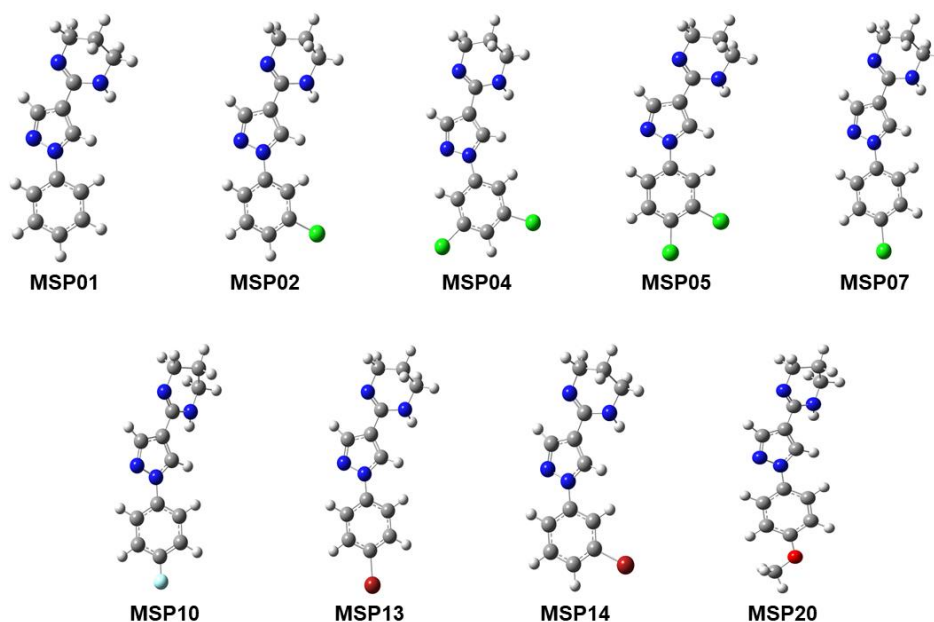


Figura 24: Estruturas otimizadas da série MSP.

Na Figura 25 está representado a enumeração de alguns átomos referentes a estas moléculas para as discussões posteriores.

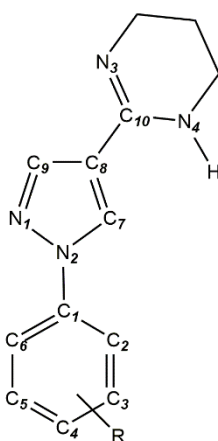


Figura 25: Identificação de alguns átomos para a molécula de MSP.

O nitrogênio do anel TIP que está ligado ao hidrogênio será denominado de N₄ o hidrogênio ligado a ele de H₁, já o outro nitrogênio do mesmo anel será nominado como N₃. Para o anel pirazólico, o hidrogênio que está ligado diretamente ao carbono 9 que faz uma dupla ligação com o nitrogênio será chamado de H₂. O outro hidrogênio do anel pirazólico, ligado ao C₇, será nominado de H₃.

Considerando estas estruturas, assim como observado para a MSO, é possível notar uma tendência de formação de ligações de hidrogênio, como é possível observar os nitrogênios do anel TIP interagindo com os hidrogênios do anel pirazólico. Percebe-se que existe uma pequena torção na ligação que contempla o átomo de hidrogênio (H₁), a fim de diminuir a repulsão existente entre ele e o H₃.

Deste modo será favorecido também a formação de ligação de hidrogênio, uma vez que existirá um menor impedimento estérico para o N₁ interagir com o H₃.

Em seguida foram realizados os cálculos com o intuito de se obter outras conformações das moléculas desta série. A estrutura de partida foi a otimizada inicialmente, apresentadas na Figura 24. Para a obtenção dos confórmeros rotacionou os diedros, φ e θ , apresentados na Figura 26, para a MSP01.

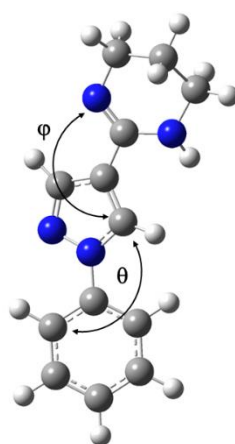


Figura 26: Representação dos diedros φ e θ , que foram rotacionados para a análise conformacional da molécula MSP01.

Obteve-se 1296 conformações para cada molécula, representadas em uma superfície de energia potencial. Sendo possível realizar a análise dos mínimos locais e globais.

A SEP da molécula MSP01 está representada a seguir:

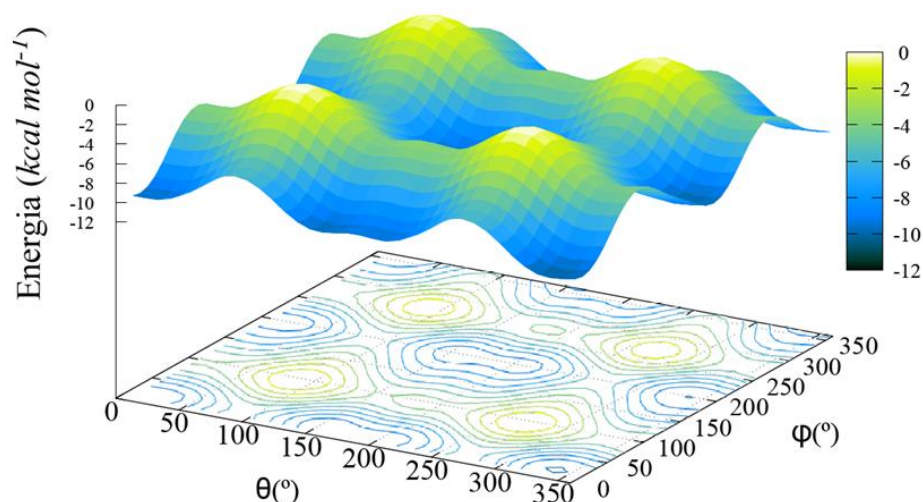


Figura 27: Gráfico da superfície de energia potencial para a molécula MSP01.

Para esta superfície existem alguns mínimos e máximos, analisando o mínimo global desta, ou seja, onde se encontra a conformação mais estável para esta molécula, denominada de MSP01-649, o diedro φ apresenta um ângulo de

18,66°, e o diedro θ 338,72°, possuindo uma energia de 10,13 kcal/mol menor que o máximo global, tomado como referência, que possui 0 kcal/mol de energia na superfície. Esta estrutura mais estável está representada na Figura 28:

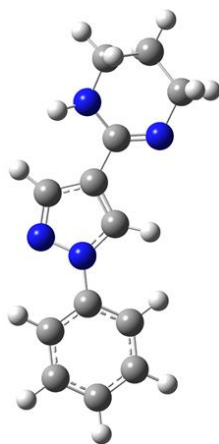


Figura 28: Estrutura da MSP01-649 otimizada.

Esta estrutura é diferente da estrutura de partida, existe diferença no diedro de quase 180° para o anel TIP, o mesmo que acontecia para algumas moléculas da série MSO. Como discutido para as moléculas da série MSO, isso provavelmente ocorre pois, favorece a formação de ligação de hidrogênio para esta molécula permanecendo nesta geometria, um exemplo para este favorecimento é a distância do N₃, onde para a conformação MSP01-649 ele fica cerca de 0,03 Å mais próximo de um hidrogênio do anel pirazólico, o que pode estabilizar esta molécula. Porém, esta distância é muito pequena, inclusive a diferença energética desta conformação para a conformação da estrutura de partida é de apenas 0,7 kcal/mol, ambas sendo mínimos de energia, porém a conformação que apresenta a geometria da Figura 28 é o mínimo global da SEP, em relação a energia eletrônica nuclear.

Como para o caso da série MSO não será discutido a SEP de todas as moléculas, para não se tornar repetitivo esta discussão. A seguir será apresentado a superfície de energia potencial da MSP02:

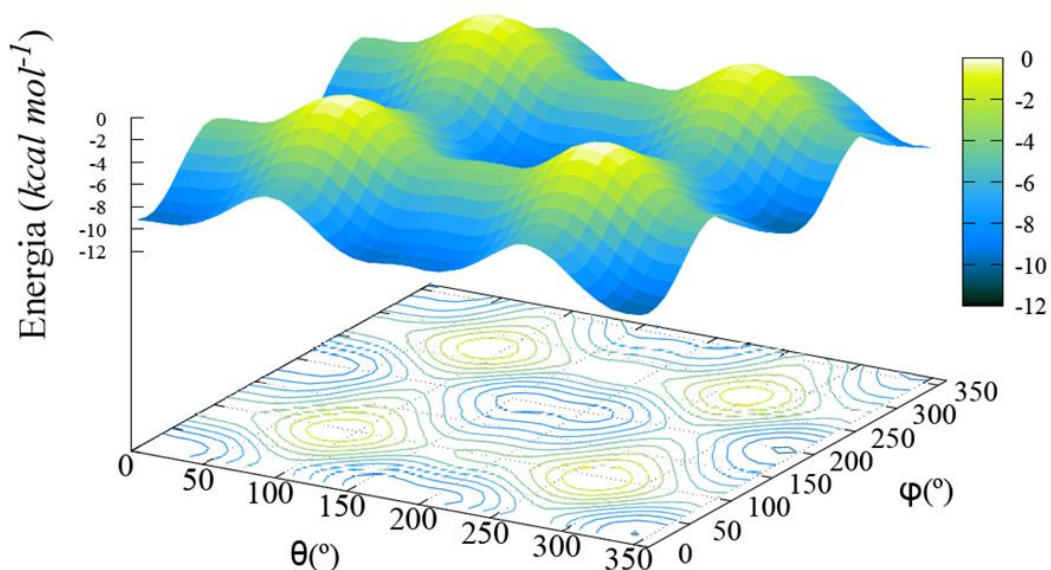


Figura 29: Gráfico da superfície de energia potencial para a molécula MSP02.

Para as moléculas da mesma série a SEP entre elas mantém o mesmo padrão, possuindo mínimos de energia em determinados ângulos diedros de φ e θ . Para a MSP02 a conformação mais estável é a que possui a estrutura de partida, denominada de MSP02-1, no qual esta apresenta um diedro φ de $197,94^\circ$ e θ de 340° sendo $10,61$ kcal/mol mais estável do que o máximo global, mais uma vez tomado como referência, possuindo 0 kcal/mol na SEP. Esta estrutura mais estável está representada isoladamente na Figura 30:

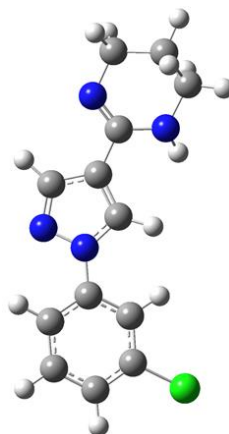


Figura 30: Estrutura da MSP02-1 otimizada.

Por esta conformação ser a estrutura de partida ela já estava otimizada, não sendo necessário a realização deste cálculo novamente, como aconteceu para a conformação mais estável da MSP01. E assim como aconteceu para a MSP01 a diferença de energia desta conformação da Figura 30 para a segunda conformação mais estável desta molécula, que é quando o anel TIP rotaciona cerca de 180° , é

muito baixa cerca de 0,12 kcal/mol, o que irá mudar a princípio serão as interações e repulsões existente.

Na Figura 31 estão representadas as conformações mais estáveis para as moléculas da série MSP obtidas a partir da análise conformacional:

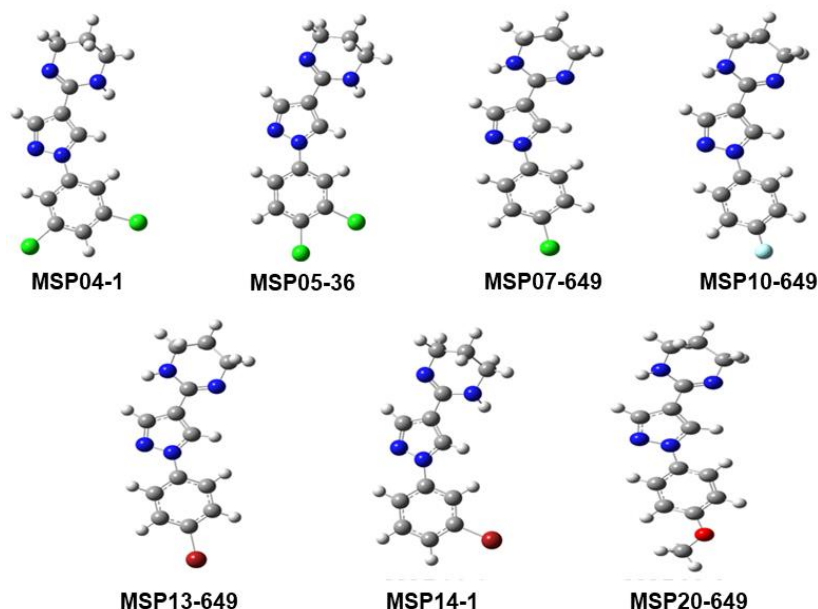


Figura 31: Conformações mais estáveis otimizadas para as moléculas da série MSP.

Na MSP05 a conformação mais estável teve uma rotação de 10° no diedro φ em relação a estrutura de partida, isto tornou a molécula mais estável energeticamente. Porém esta diferença de energia é muito pequena, possuindo um ΔG de 5×10^{-3} kcal/mol, devido a esta diferença é possível considerar ambas como mínimos de energia, uma vez que ao otimizar a conformação mais estável da MSP05 ela se aproxima da estrutura de partida otimizada. Analisando estas duas conformações notou-se que elas variam em alguns diedros e ângulos de ligação apenas.

Entre as moléculas da série MSP, além da MSP02, a MSP04 e MSP014 também não precisaram ser otimizadas novamente. Uma vez que a conformação mais estável obtida foi a estrutura de partida.

Portanto, ao se obter as SEP e as diversas conformações que existem para cada uma das moléculas que compõem a superfície, se torna possível analisar à proporção que existe dessas conformações. Para isto realizou-se a análise populacional das conformações, os confórmeros selecionados foram os de menores energia em cada um dos poços da superfície, sendo 4 ao todo, no qual todas estas conformações deveriam estar otimizadas e também possuírem cálculos de análise vibracional. Porém como é possível observar na Tabela 7 em alguns casos não são

analisadas as 4 conformações selecionadas, isto porque, alguns conformémeros quando otimizados se deslocam para um mínimo comum de energia, possuindo, portanto a mesma energia e mesma estrutura.

Para as moléculas da série MSP a quantidade de cada conformação está representada na Tabela 1, a qual também apresenta o valor de ΔG desses conformémeros em relação ao mais estável e na Figura 32 estão representadas as estruturas das conformações de maiores populações.

Tabela 7: Energia livre de Gibbs relativa a conformação mais estável para cada uma das moléculas da série MSP e a população conformacional destas, utilizando nível de cálculo DFT com funcional M06-2X e função de base 6-31G(d,p) e T=298,15K.

Molécula	Conformação			
	649	1	-	-
MSP01	649	1	-	-
$\Delta G(\text{kcal/mol})$	0	0,46		
Pop(%)	68,54	31,47		
MSP02	667	1	649	-
$\Delta G(\text{kcal/mol})$	0	0,16	0,47	
Pop(%)	61,79	23,94	14,26	
MSP04	649	1	-	-
$\Delta G(\text{kcal/mol})$	0	0,75		
Pop(%)	77,94	22,06		
MSP05	667	36	19	
$\Delta G(\text{kcal/mol})$	0	0,67	0,78	
Pop(%)	68,59	22,07	9,33	
MSP07	19	649	-	-
$\Delta G(\text{kcal/mol})$	0	0,57		
Pop(%)	72,46	27,53		
MSP10	662	649	1	-
$\Delta G(\text{kcal/mol})$	0	0,44	1,07	
Pop(%)	55,49	26,27	18,24	
MSP13	649	19	-	-
$\Delta G(\text{kcal/mol})$	0	0,66		
Pop(%)	75,16	24,85		
MSP14	667	649	1	19
$\Delta G(\text{kcal/mol})$	0	0,16	0,71	0,96
Pop(%)	44,17	33,82	13,30	8,71
MSP20	661	649	19	-
$\Delta G(\text{kcal/mol})$	0	0,18	0,76	
Pop(%)	44,64	32,70	22,66	

As estruturas das conformações que apresentaram as maiores populações estão representadas a seguir:

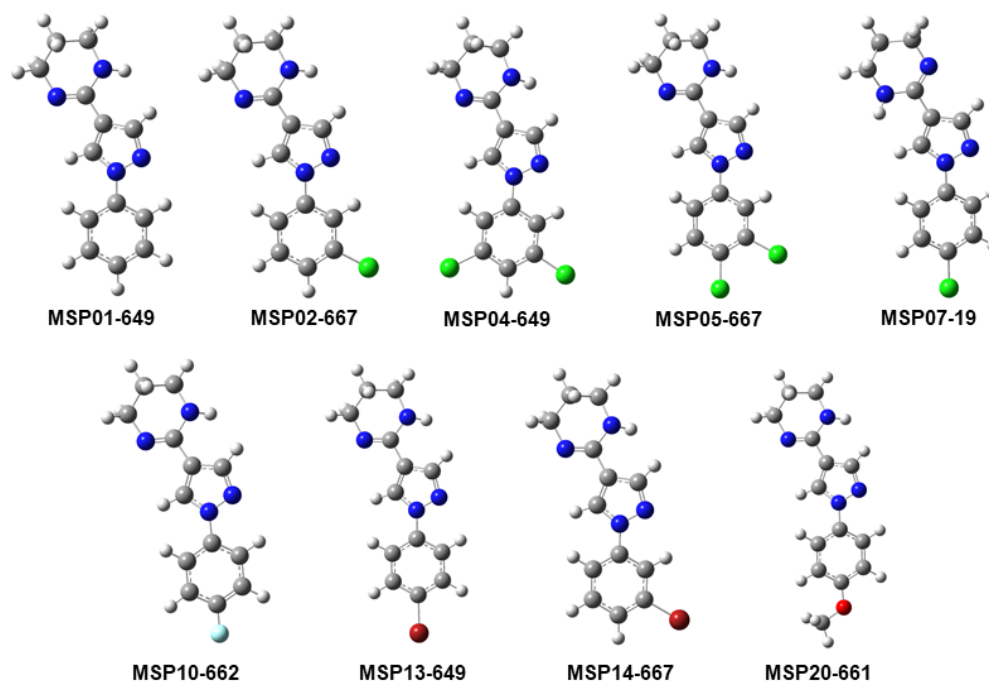


Figura 32: Estruturas das conformações para as moléculas da série MSP que apresentaram a maior população.

Analisando os valores da Tabela 7 é possível observar que em alguns casos foram analisados uma menor quantidade de conformações, isto porque, como ocorrido para as moléculas da série MSO, algumas conformações foram para um mesmo mínimo de energia possuindo um mesmo valor de energia livre de Gibbs e mesma estrutura, conseqüentemente, quando isso ocorria, esses confórmeros eram tomados apenas como um, somando a população destes.

É interessante notar que em algumas moléculas (MSP02, 04, 05, 07, 10, 14 e 20) a conformação que apresentou a maior população foi diferente daquela de menor energia na SEP, é importante destacar isto pois os cálculos realizados em sequência como as energias dos orbitais moleculares, foram feitos todos para a conformação que foi o mínimo de energia na SEP e não aquela de maior população. E essa divergência entre a conformação que apresentou a maior população com o mínimo na SEP se deve ao fato de que ao realizar o cálculo para se obter a superfície de energia potencial, partiu de uma estrutura, denominada conformação 1 que já estava otimizada, sendo um mínimo de energia, porém, para todas as outras conformações obtidas na SEP foram forçadas a possuir a estrutura que apresentava a energia na SEP, logo ao otimizar alguns mínimos da SEP é bem provável que

estes tenham sua energia estabilizada ainda mais. Portanto quando esses mínimos foram otimizados, as energias deles ficaram menores ainda, e em alguns casos, menor inclusive do que a conformação de mínimo na SEP, apresentando um ΔG menor e por consequência uma maior população.

Em seguida foram realizados cálculos do tipo NBO para se obter as cargas dos átomos, utilizando as estruturas apresentadas na Figura 31, que foram que apresentaram as menores energias eletrônicas nucleares na SEP. Para discutir as cargas identificou-se alguns átomos das moléculas de MSP, como demonstrado na Figura 25:

Feito a identificação destes átomos apresentados na Figura 25, será apresentado as cargas dos mesmos. A Tabela 8 mostra as cargas em relação a alguns átomos de carbono das moléculas desta série.

Tabela 8: Valores das cargas, em Debye, para os átomos de carbono para as moléculas da série MSP, utilizando a metodologia MP2 e função de base 6-31G(d,p).

MSP	R	C ₁	C ₃	C ₄	C ₅	C ₇	C ₈	C ₉	C ₁₀
01	H	0,14	-0,225	-0,229	-0,225	-0,029	-0,181	-0,061	0,419
02	3-Cl	0,156	-0,045	-0,247	-0,212	-0,066	-0,174	-0,018	0,417
04	3,5-diCl	0,17	-0,036	-0,266	-0,035	-0,065	-0,171	-0,014	0,416
05	3,4-diCl	0,203	-0,038	-0,081	-0,204	0,037	-0,235	0,061	0,543
07	4-Cl	0,137	-0,243	-0,049	-0,243	-0,029	-0,177	-0,058	0,419
10	4-F	0,131	-0,292	0,425	-0,29	-0,03	-0,18	-0,061	0,419
13	4-Br	0,13	-0,241	-0,123	-0,24	-0,029	-0,177	-0,058	0,419
14	3-Br	0,156	-0,118	-0,245	-0,211	-0,066	-0,174	-0,018	0,417
20	4-OCH ₃	0,126	-0,252	0,312	-0,301	-0,031	-0,183	-0,063	0,42

Ao analisar as cargas dos átomos de carbono para a série de moléculas MSP percebe-se que as cargas são próximas, ficaram apenas com valores diferentes quando os átomos de carbono estão ligados a algum grupo substituinte e, devido a isto, estes valores de carga serão outros, que é o acontece com os carbonos C₃, C₄ e C₅, principalmente quando estes grupos são muito eletronegativos como flúor (MSP10) e oxigênio do grupo metóxi (MSP20), ambos estão ligados ao carbono C₄ e o valor deste carbono em relação aos outros acaba ficando muito discrepante. É notável também o valor de carga dos carbonos quando existe um cloro ligado ao anel benzênico na posição para. Outros valores de cargas interessantes de perceber que mudaram são das moléculas MSP02, MSP04 e MSP14 em relação aos carbonos C₁, C₇ e C₉, e estes valores ficaram um pouco diferentes dos outros carbonos das outras moléculas, pois as interações

intramoleculares serão diferentes, já que o anel superior destas possuem um valor de diedro de aproximadamente 180° de diferença em relação as outras moléculas, como demonstrado na Figura 33, e isto afetará nas cargas, assim como da MSP05, que ainda possui uma diferença no diedro φ para estas molécula de 10° e possuindo também um outro valor de carga.

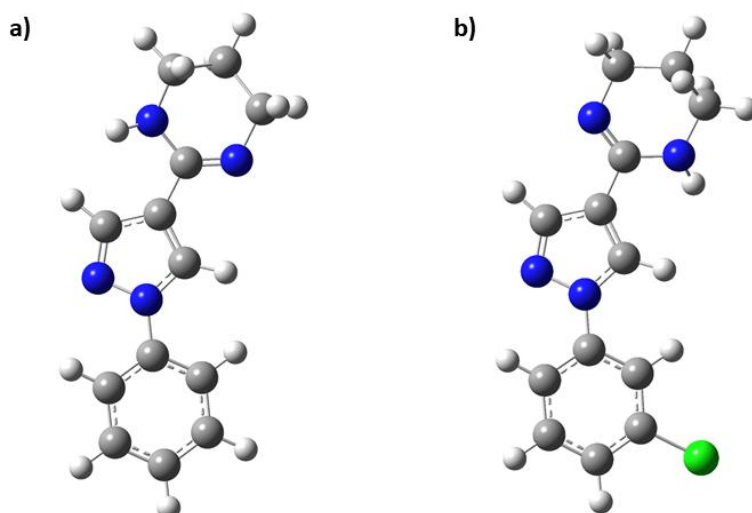


Figura 33: Moléculas MSP01 e MSP02, as quais possuem um valor diédrico muito discrepante no anel 1,4,5,6-tetraidropirimidínico.

As cargas para os átomos de nitrogênio estão representadas na Tabela 9:

Tabela 9: Valores das cargas, em Debye, para os átomos de carbono para as moléculas da série MSP, utilizando a metodologia MP2 e função de base 6-31G(d,p).

MSP	R	N ₁	N ₂	N ₃	N ₄
01	H	-0,277	-0,151	-0,512	-0,679
02	3-Cl	-0,274	-0,159	-0,499	-0,684
04	3,5-diCl	-0,273	-0,16	-0,497	-0,684
05	3,4-diCl	-0,319	-0,246	-0,608	-0,751
07	4-Cl	-0,278	-0,153	-0,512	-0,679
10	4-F	-0,278	-0,152	-0,513	-0,679
13	4-Br	-0,278	-0,153	-0,512	-0,679
14	3-Br	-0,274	-0,158	-0,499	-0,684
20	4-OCH ₃	-0,279	-0,149	-0,513	-0,68

Novamente, assim como acontecia para os valores de carga nos átomos de carbono, os valores para os nitrogênios ficaram próximos entre si. Existindo uma diferença maior apenas nas moléculas de MSP02, MSP04, MSP05 e MSP14, já que para estas o valor do diedro do anel superior será diferente em relação as outras moléculas. Logo os valores do N₃ e N₄, que pertencem ao anel superior, serão um pouco diferentes quando comparado com as outras moléculas da série. Novamente

se percebe também que o cloro na posição para a molécula MSP05 interfere nos valores de carga do restante dos átomos.

Por fim, analisando as cargas dos grupos substituintes nas moléculas da série MSP, percebe-se que as cargas dos átomos de cloro e bromo, são relativamente próximas, possuindo valores pequenos e positivos, variando entre 0,013 a 0,029 Debye para os átomos de cloro e 0,076 Debye para os átomos de bromo, uma vez que estes átomos possuem eletronegatividade próximas também. Já para os átomos mais eletronegativos, flúor e oxigênio, possuem valores negativos e grandes comparados com os átomos de cloro e bromo, sendo -0,335D para o átomo de flúor e -0,525D para o átomo de oxigênio. E isto provavelmente ocorre justamente por eles serem mais eletronegativos, logo é mais difícil destes cederem seus elétrons, conseqüentemente possuem uma carga mais negativa do que os outros grupos substituintes. Já a carga mais negativa do oxigênio pode ser explicada por ele estar ligado também a um grupo alquila, fazendo com que sua carga fique mais negativa ainda.

Em seguida analisou-se os orbitais moleculares para as moléculas desta série a partir das regiões de densidade eletrônica destes. Foi analisado nos diagramas de energia desde o HOMO -2 até o LUMO +2 para verificar se existe degenerescência entre os orbitais. Para a molécula MSP01 este diagrama está representado na Figura 34:

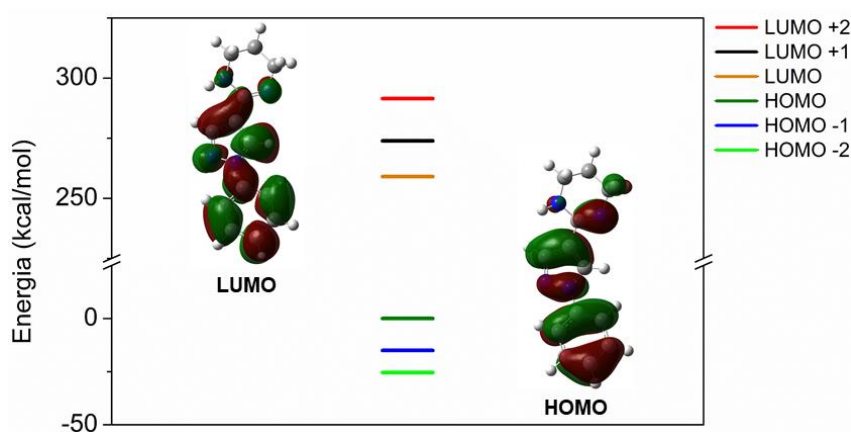


Figura 34: Diagrama de energia para os orbitais moleculares de fronteira da molécula MSP01, utilizando a metodologia MP2 e função de base 6-31G(d,p), com isovalor de 0,02u.a.

Analisando os orbitais moleculares de fronteira é possível perceber uma nítida diferença em relação aos orbitais da série MSO. Novamente não existe degenerescência nos orbitais, porém nesta molécula existe uma região de densidade eletrônica sobre o anel benzênico no HOMO o que não acontecia para a

maioria das moléculas da série MSO. Como descrito anteriormente esta análise visual dos orbitais pode ajudar entender um pouco mais sobre a reatividade¹⁰⁹ da molécula. Neste caso, se a MSP01 realizar um ataque eletrofílico poderá ter a participação do anel benzênico, diferentemente do que ocorria para a MSO01, por exemplo, e isto irá diferir nas possíveis formas de interação dessas moléculas. Em relação ao LUMO, as regiões de densidade eletrônica são semelhantes com a MSO01, por exemplo, envolvendo quase toda a molécula.

A seguir estão representados os orbitais moleculares para todas as moléculas da série MSP:

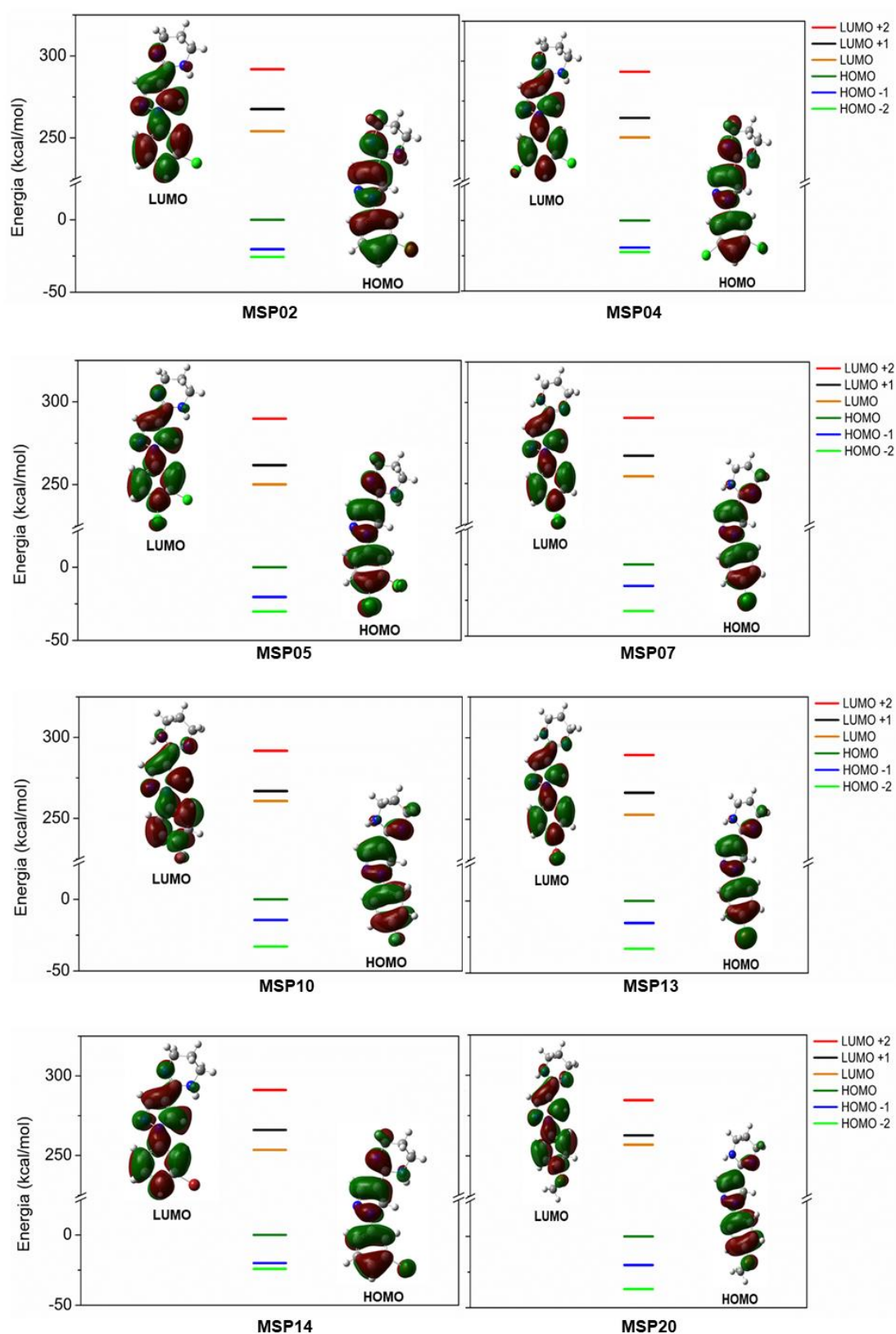


Figura 35: Orbitais moleculares de fronteira para as conformações mais estáveis das moléculas da série MSP, utilizando a metodologia MP2 e função de base 6-31G(d,p), com isovalor de 0,02u.a.

Analisando os orbitais moleculares para as moléculas desta série foi constatado que não existe degenerescência em nenhum caso. Observou-se também que as moléculas mantêm um padrão em relação a densidade eletrônica localizada no HOMO e LUMO, sofrendo pouca influência sobre esta região quando há a variação do grupo substituinte. Para as moléculas da série MSO também foi observado que elas mantinham um padrão, mas em alguns casos isto mudava de acordo com o grupo substituinte, levando a entender que a presença do grupo amino nas moléculas MSO causava isto. Comparando as duas séries de moléculas se torna visível a diferença em relação a região de densidade eletrônica, principalmente quando analisa-se o HOMO, onde existe uma grande diferença em relação ao anel benzênico para as diferentes séries.

Em seguida analisou-se os mapas de potencial eletrostático para estas moléculas, a Figura 36 mostra o MPE para a molécula MSP01 em sua conformação mais estável, onde o potencial mais negativo é indicado por uma coloração mais avermelhada e o potencial mais positivo é indicado por uma coloração mais azulada.

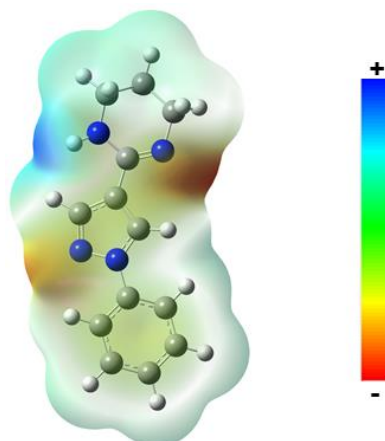


Figura 36: Mapa de potencial eletrostático da MSP01, utilizando a metodologia MP2 e função de base 6-31G(d,p), com isovalor de 0,0004u.a.

Analisando o MPE para esta molécula nota-se uma maior concentração de carga negativa próxima aos átomos de nitrogênio, pois como já mencionado anteriormente, estes suportam melhor uma carga não neutra do que os outros átomos presentes nesta molécula. Torna-se possível também observar que existe uma maior concentração de carga positiva próximo ao hidrogênio ligado ao nitrogênio do anel TIP, estando mais propícios a interagirem com cargas negativas naquela região.

Os outros mapas de potencial eletrostático para as moléculas da mesma série estão representados a seguir:

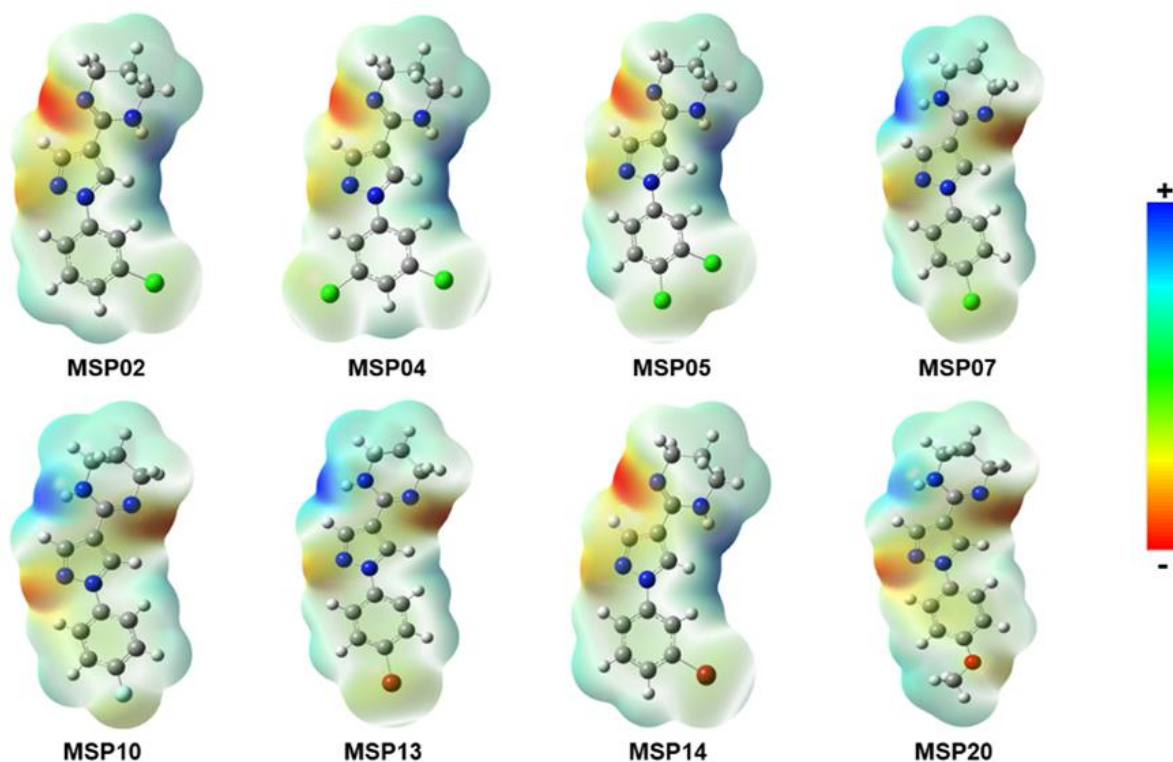


Figura 37: Mapas de potencial eletrostático para as moléculas da série MSP, utilizando a metodologia MP2 e função de base 6-31G(d,p), com isovalor de 0,0004u.a.

As moléculas que possuem praticamente o mesmo diedro no anel superior têm seus MPE muito similares, como por exemplo a MSP01 que foi discutido anteriormente com a MSP07, ambas possuindo regiões de concentração de cargas parecidas. Já quando o anel superior está diferente da MSP01, que é o caso para as moléculas MSP02, 04, 05 e 14, a concentração de cargas estará diferente, porém os MPE destas moléculas estão parecidos entre si.

Analisando as moléculas MSP02, 04, 05 e 14 nota-se que existe uma região de alta concentração de carga positiva, que está localizada do lado oposto ao N₁ do anel pirazólico. É possível observar a presença de 3 hidrogênios que estão fazendo com que isso ocorra. Em compensação o nitrogênio do anel TIP que não está ligado a nenhum hidrogênio irá apresentar uma maior concentração de carga negativa do que das outras moléculas que possui uma rotação diferente do anel TIP isto porque irá possuir uma menor interação com algum hidrogênio do anel pirazólico.

Porém para as outras moléculas da série, é possível notar uma maior concentração de carga positiva em uma determinada região que é onde está localizado o hidrogênio ligado ao nitrogênio no anel TIP, podendo ser alvo de ataques nucleofílico, por exemplo. E para estas mesmas moléculas, diferentemente das MSP02, 04, 05 e 14, apresentam duas regiões de grande concentração de

carga negativa como é possível observar nos nitrogênios N₁ e N₃. Os grupos substituintes também apresentam próximo a eles regiões de carga negativa, principalmente por serem retiradores de densidade eletrônica, logo faz sentido possuírem uma região com uma carga mais negativa.

Logo, como feito para as moléculas da série MSO, a partir da energia do HOMO e LUMO é possível se obter diversos parâmetros das moléculas, que estão representados a seguir:

Tabela 10: Parâmetros químicos calculados para as moléculas da série MSP no nível MP2.

	MSP01	MSP02	MSP04	MSP05	MSP07	MSP10	MSP13	MSP14	MSP20
I (eV)	8,18	8,36	8,36	8,44	8,31	8,28	8,27	8,34	7,81
A (eV)	-3,05	-2,66	-1,66	-2,41	-2,73	-3,03	-2,69	-2,65	-3,33
E_{gap} (eV)	11,23	11,02	10,02	10,84	11,04	11,31	10,96	10,99	11,14
η (eV)	5,62	5,51	5,01	5,42	5,52	5,65	5,48	5,50	5,57
σ (eV⁻¹)	0,18	0,18	0,20	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18
χ (eV)	2,56	2,85	3,35	3,01	2,79	2,63	2,79	2,85	2,24
μ (eV)	-2,56	-2,85	-3,35	-3,01	-2,79	-2,63	-2,79	-2,85	-2,24
ω (eV)	0,58	0,74	1,12	0,84	0,71	0,61	0,71	0,74	0,45
N (eV⁻¹)	1,71	1,36	0,89	1,19	1,42	1,64	1,41	1,36	2,21

A partir destes parâmetros é possível realizar uma análise mais profunda destas moléculas e conseguir compará-las também ao mudar o substituinte. Primeiramente é possível perceber que a molécula MSP20 possui o HOMO de mais alta energia, uma vez que I é o potencial de ionização, e como demonstrado no Capítulo 3, é o negativo da energia do HOMO, isso faz com que esta molécula tenha uma maior tendência de doar elétrons. Já a molécula que possui o LUMO de mais baixa energia é a MSP04, conseqüentemente, isto fará com que ela tenha uma maior facilidade de aceitar elétrons.

Pode-se notar que a maior diferença energética entre os orbitais de fronteira (E_{GAP}) é da molécula MSP10, o que a torna mais estável em relação as outras moléculas da série, essa relação entre a reatividade e o valor da E_{GAP} já foi discutida anteriormente para as moléculas da série MSO. Por possuir a maior diferença energética entre os orbitais de fronteira ocasionará com que esta seja a molécula mais dura, interessante notar isto, uma vez que o flúor é considerado um átomo duro e faz com que a molécula acabe ficando com um maior grau de dureza. Por outro lado, a molécula mais macia será aquela que apresentar um menor E_{GAP}. Para as moléculas desta série a MSP04 é a mais macia e como discutido anteriormente isto pode ser um fator interessante para a análise das interações com alguma estrutura biológica.

Em relação a eletronegatividade a molécula que apresenta o maior valor em relação a este parâmetro é a MSP04, sendo também a de menor potencial químico. Já a molécula que apresenta menor valor em relação a eletronegatividade é a MSP20, fazendo com que seus elétrons estejam mais disponíveis em comparação as outras moléculas da série.

Estes valores de eletronegatividade ou potencial químico e também de dureza implicam nos valores de eletrofilicidade e nucleofilicidade. Assim, conforme observado para as moléculas da série MSO, o valor de nucleofilicidade é maior do que de eletrofilicidade, fazendo com que estas se comportem mais como um nucleófilo do que um eletrófilo, com exceção da molécula MSP04 que apresenta um valor um pouco maior para a eletrofilicidade e isto pode ser observado pelo valor quando comparado com as energias dos orbitais HOMO e LUMO das moléculas desta série.

Comparar estes valores com as imagens de região de densidade eletrônica dos orbitais moleculares e também com os MPE das moléculas, podem gerar informações preliminares sobre as mesmas em relação a reatividade e atividade biológica. É possível, também, correlacionar estes dados com valores de IC₅₀ das mesmas:

Tabela 11: Valores de IC₅₀ para as moléculas de MSP.

MSP	<i>Amazonensis</i> (μM)	<i>Braziliensis</i> (μM)	Toxicidade (μM)
01(H)	26,93 \pm 2,3	--	--
02 (3-Cl)	92,25 \pm 5,4	81,58 \pm 6,06	465
04 (3,5-diCl)	66,3 \pm 2,4	30,62 \pm 5,64	191

Assim como para a série MSO só se tem os dados de IC₅₀ para algumas moléculas da série MSP. Em relação a espécie *L. Amazonensis*, dentre as moléculas para as quais estão disponíveis os valores de IC₅₀, a que apresenta o melhor resultado é a MSP01, como demonstrado na Tabela 11. Já para a espécie *L. Braziliensis* é a molécula MSP04, possuindo também uma menor toxicidade.

Analisando geometricamente as três moléculas nota-se que a MSP01 possui o anel TIP rotacionado cerca de 180° de diferença em relação a MSP02 e 04. E esta diferença, juntamente com a adição de átomos de cloro nas posições meta, pode causar diferentes interações com as estruturas biológicas sendo capaz de ocasionar

discrepantes valores de IC₅₀. Mas para analisar essas diferenças nas interações seria necessário realizar cálculos de docking^{97,114,115}.

No entanto, para a análise dos orbitais moleculares de fronteira e também dos mapas de potencial eletrostático são de grande importância para compreender melhor as diferenças de comportamentos destas. A Figura 34 e a Figura 35 apresentam os orbitais moleculares de fronteira destas moléculas com seus respectivos valores de energia. Ao compará-los nota-se que não há muita diferença entre eles. Existe uma diferença na região de densidade eletrônica no HOMO, entre as moléculas MSP02 e 04 com a MSP01, e esta diferença é no anel TIP, no qual possuem rotação diferente. Em relação ao LUMO as densidades são parecidas. Interessante notar também a semelhança entre a MSP02 e MSP04, possuindo regiões de densidade eletrônica, tanto para o HOMO quanto para o LUMO, muito semelhantes.

Já para os mapas de potencial eletrostático, para as moléculas que possuem dados de IC₅₀, talvez esteja a maior diferença entre elas. Nota-se que não existe uma grande diferença em relação as concentrações de carga para as moléculas MSP02 e MSP04, o que era esperado mesmo, já que elas são parecidas entre si, possuindo geometria parecida também, a diferença se dá pela adição de outro cloro na posição meta, e a maior diferença entre as duas é justamente nesta região que a MSP04 apresenta este cloro. Já a MSP01 apresenta uma concentração de carga diferente da MSP02 e 04, e isto está relacionado, novamente, com a diferença no ângulo diédrico do anel TIP. O nitrogênio do anel que não possui um hidrogênio ligado a ele, apresenta uma maior concentração de carga negativa, e por estarem em lados opostos nas moléculas, irá fazer com que os MPE apresentem uma discrepância. Como pode se observar para as MSP02 e 04 a região oposta ao N₁ apresenta uma grande região de carga positiva e isto não acontece para a MSP01, justamente por causa da carga negativa do N₃ e isto provavelmente, irá ocasionar em diferentes interações.

Por fim, analisando os parâmetros químicos calculados para estas moléculas, Tabela 10, nota-se que existe uma diferença considerável, ainda mais quando se compara com as moléculas MSO02 e 04, no qual havia muito pouca diferença entre estes parâmetros. Em relação as moléculas MSP01 e 02, é possível perceber que parâmetros como potencial de ionização, afinidade eletrônica, eletronegatividade e índice de eletrofilicidade são maiores para a molécula MSP02,

e os outros índices são maiores para a MSP01, como por exemplo a dureza e E_{GAP} , fazendo com que esta molécula seja considerada mais estável. Interessante notar também a questão do índice de maciez, já discutido anteriormente para as moléculas da série MSO a importância deste parâmetro, nota-se que a molécula MSP02 é mais macia que a MSP01, apesar de ambas apresentarem o mesmo valor na Tabela 10, devido a utilização de duas casas decimais, esse valor é diferente de 0, porém muito pequeno. A maior diferença de parâmetros para estas é em relação a afinidade eletrônica e o índice de nucleofilicidade, onde a molécula MSP02 apresenta uma maior capacidade em aceitar elétrons de um doador, conseqüentemente apresenta uma maior eletronegatividade. Já a MSP01 apresenta um maior índice de nucleofilicidade, ou seja, se comporta mais como um nucleófilo, logo o HOMO desta molécula é de suma importância para este caso, talvez devido a estas diferenças de valores em relação a afinidade eletrônica, que envolve o LUMO, e também de nucleofilicidade que envolve o HOMO, somado as outras diferenças dos parâmetros cause valores diferentes no IC_{50} para estas moléculas.

Entre as moléculas MSP01 e MSP04 as diferenças entre os parâmetros são maiores ainda. Novamente nota-se uma grande diferença em relação a afinidade eletrônica e índice de nucleofilicidade, e desta vez a diferença no valor de E_{GAP} apresenta um valor considerável, sendo a MSP01 mais estável do que a MSP04. A molécula MSP04 apresenta um valor de afinidade eletrônica de 1,39 eV maior do que a MSP01. Já a MSP01 apresenta um comportamento como nucleófilo melhor do que da MSP04, interessante notar que a molécula MSP04 possui um índice de eletrofilicidade maior do que nucleofilicidade, apresentando então um comportamento melhor como eletrófilo, o que é oposto da MSP01, isto pode ter influência direta quando comparado os valores de IC_{50} . A MSP04 apesar do valor pequeno também apresenta um valor maior em relação a maciez, sendo mais macia que as outras da série e de acordo com os valores de IC_{50} para a espécie *L. Amazonensis* este valor isolado não foi determinante para o resultado obtido, como era de se esperar, uma vez que um único parâmetro não reflita em resultado exatos, sendo necessário uma combinação de vários destes.

Por fim comparando as moléculas MSP02 e MSP04 percebe-se uma diferença maior dos parâmetros químicos calculados da afinidade eletrônica, E_{GAP} e também nos índices de eletrofilicidade e nucleofilicidade. É relevante notar que os orbitais de fronteira e os MPE destas moléculas são parecidos, porém analisando a

energia destes percebe-se que existe uma diferença considerável entre eles, mesmo essas possuindo o mesmo valor de potencial de ionização, no qual envolve a energia do HOMO. Assim como ocorria quando comparado os valores de maciez e nucleofilicidade da MSP01 e MSP04, o mesmo comportamento acontece em relação a MSP02 e 04. A MSP04 apresentando um maior índice de maciez e possui um comportamento oposto a MSP02 quando se trata a eletrofilicidade e nucleofilicidade.

Em seguida, realizaram-se cálculos com o intuito da obtenção do coeficiente de partição das moléculas desta série.

Para se calcular o LogP de cada uma das moléculas, realizaram-se cálculos de otimização de geometria e análise vibracional em meio solvente, 1-octanol e também água, utilizando DFT, funcional M06-2X e função de base 6-31G(d,p) e com a metodologia SMD. Uma vez que se tenha a energia livre dessas moléculas, se torna possível determinar o LogP. Para as moléculas da série MSP estão representadas a seguir:

Tabela 12: Valores da energia livre das moléculas da série MSP em água e em 1-octanol (kcal/mol) e os respectivos valores de LogP para as moléculas em 298,15K.

Molécula	ΔG Água	ΔG 1-Octanol	LogP
MSP01	-453261,45	-453263,44	1,45
MSP02	-741651,79	-741654,24	1,80
MSP04	-1030043,49	-1030044,63	0,83
MSP05	-1030040,12	-1030042,88	2,02
MSP07	-741652,40	-741655,70	2,42
MSP10	-515517,56	-515519,02	1,07
MSP13	-2066711,39	-2066713,96	1,88
MSP14	-2066710,98	-2066713,57	1,90
MSP20	-525080,11	-525080,58	0,34

A partir dos valores obtidos de LogP para as moléculas dessas série, apresentados na Tabela 12, nota-se que elas possuem uma maior afinidade pela fase orgânica, que é representada pelo solvente 1-octanol, assim como acontecia para as moléculas de MSO, ou seja, elas possuem uma maior lipofilicidade do que hidrofiliicidade. Como as moléculas são parecidas estruturalmente, os valores de LogP serão próximos, como é possível observar

Para as moléculas dessa série a que apresentou o maior valor de lipofilicidade foi a molécula MSP07, interessante comparar o valor dela com as moléculas MSP10 e 13 que possuem outros halogênios na mesma posição no anel benzênico. Nota-se que quando comparado com um átomo mais eletronegativo que

o cloro, que é o caso do flúor no MSP10, o valor de LogP reduz drasticamente. E quando comparado com um átomo menos eletronegativo que o cloro, que é o caso do bromo no MSP13, o valor também é reduzido, mas nem tanto como acontecia na MSP10.

Porém diferentemente do que acontecia para as moléculas MSP07 e MSP13, se observa nas moléculas MSP02 e MSP14, onde a molécula que apresenta o bromo como substituinte na mesma posição que o cloro, irá apresentar um maior valor LogP.

Algo a se destacar também é a diferença no valor de LogP para as moléculas MSP05 e 04, sendo que estas se diferem na posição que o cloro está no anel benzênico, sendo que a mudança da posição 4 no anel para a posição 5 faz com que o valor de LogP diminua consideravelmente também, sendo que a mudança de posição do cloro afeta a polaridade da molécula, mudando a interação dela em fase orgânica e aquosa.

E este valor é muito interessante, pois de acordo com a literatura existe um valor de LogP ótimo para cada molécula¹¹⁶, porém de uma forma geral um valor considerado ideal para LogP varia entre 0-5¹¹², desta maneira, é mais provável que nesta faixa de LogP as moléculas possuam uma melhor absorção ou permeação nas membranas, inclusive até uma melhor biodisponibilidade oral. E todas as moléculas da série MSP possuem valores de LogP entre 0-5, sendo um resultado interessante ao imaginar estes potenciais fármacos em meio biológico¹¹⁷.

Logo os resultados obtidos para ambas as séries de moléculas estudadas podem fornecer informações preliminares de fatores que estão ligados aos valores de IC₅₀ destas, como é o caso dos valores dos parâmetros químicos obtidos para os compostos, podendo inclusive auxiliar no planejamento de novos fármacos.

4.3 Determinação da atividade biológica teórica para as moléculas em estudo

Para as duas séries de moléculas estudadas foi proposto uma equação de QSAR, um modelo matemático que relaciona a estrutura química com a propriedade biológica de interesse, como a demonstrada na Equação **Erro! Fonte de referência não encontrada.**

A propriedade biológica de interesse neste caso é o valor da metade da concentração inibitória máxima (IC₅₀), sendo que para algumas moléculas já se tem o valor experimental. Para isto utilizaram-se os valores dos parâmetros químicos

calculados para estas moléculas, apresentados na Tabela 4 e Tabela 10, no qual estes foram os descritores da equação, onde cada parâmetro possui um peso definido pelo algoritmo computacional utilizado, para isto foi utilizado o método Solver do programa Excel, que é uma ferramenta para resolução de problemas matemáticos com convergência em parâmetro pré estabelecido, de forma a otimizar os coeficientes para minimizar o erro quadrado entre o experimental e o teórico e a seguinte equação foi obtida:

$$\begin{aligned} IC_{50} \text{ Teórico} = & (-1645,26)x(-E_{HOMO}) + (-1410,29)x(-E_{LUMO}) \\ & + (-234,97)x(E_{GAP}) + (3370,64)x(\eta) + (-1764,88)x(\chi) \\ & + (1764,88)x(\mu) + (9503,07)x(\omega) + (-2102,99)x(N) \end{aligned} \quad 51.$$

Logo a partir desta equação, utilizando os parâmetros da energia dos orbitais moleculares de fronteira (HOMO e LUMO), a diferença de energia entre esses orbitais (E_{GAP}), dureza (η), eletronegatividade (χ), potencial químico (μ), eletrofilicidade (ω) e nucleofilicidade (N) foi possível determinar o IC_{50} teórico para estas moléculas contra a *L. Amazonensis* e comparar com o experimental, apresentados na Tabela 13. Interessante notar que o descritor que apresentou o maior peso foi a eletrofilicidade. Ao analisar na literatura sobre esta propriedade em particular, Parthasarathi e colaboradores¹⁰⁴ fizeram um estudo no qual demonstram a importância desta propriedade na predição da atividade biológica, no qual conseguiram relacionar este parâmetro, isoladamente, com 8 tipos diferentes de atividade biológica, ou seja, ele realmente tem uma importância considerável na predição da atividade biológica, estando de acordo em ter um maior peso definido pelo algoritmo.

Tabela 13: Valores de IC_{50} experimental e teórico para algumas moléculas em estudo.

Moléculas	<i>Leishmania Amazonensis</i>	
	IC_{50} Experimental (μM)	IC_{50} Teórico (μM)
MSO02	74,5 \pm 24,1	74,5
MSO04	48,5 \pm 1,4	48,5
MSP01	26,93 \pm 2,3	26,93
MSP02	92,25 \pm 5,4	92,25
MSP04	66,3 \pm 2,4	66,30

Nota-se que os valores de IC_{50} ficaram consistentes quando comparados, porém, devido a pequena quantidade de dados do valor experimental, estes valores ficaram tão próximos, pois quanto menor a quantidade de dados, mais fácil é para o programa ajustar a equação apresentada. Importante ressaltar também que para que o programa conseguisse ajustar a equação é necessário que já tenha algum dado experimental do IC_{50} . E para verificar a metodologia utilizada, a partir dos

dados da pesquisa realizada por Sayin e Karakas¹⁰², por análise reversa obteve-se resultados compatíveis com o da literatura, validando-se a mesma.

Uma vez que se ajustou a equação com os dados das moléculas que já se tem o resultado experimental, calculou-se também o IC₅₀ teórico para as outras moléculas das séries em estudo:

Tabela 14: Valores do IC₅₀ teórico obtido para as moléculas da série MSO e MSP que não se tem dado experimental de IC₅₀.

Moléculas	<i>Leishmania Amazonensis</i>	Moléculas	<i>Leishmania Amazonensis</i>
	IC ₅₀ Teórico (µM)		IC ₅₀ Teórico (µM)
MSO01	-115,16	-	-
MSO05	65,30	MSP05	90,05
MSO07	76,56	MSP07	102,76
MSO10	111,24	MSP10	101,79
MSO13	70,73	MSP13	17,16
MSO14	115,91	MSP14	84,39
MSO20	-382,58	MSO20	-274,20

Algo que se destaca na Tabela 14 são que em alguns casos foram obtidos valores negativos de IC₅₀, isto acontece pois eles estão classificados de acordo com os IC₅₀ obtidos experimentalmente de compostos semelhantes, e como o IC₅₀ é uma medida de concentração, não é possível se obter um valor negativo.

De acordo com os resultados obtidos, os melhores resultados de IC₅₀ contra a espécie *Leishmania Amazonensis* para as moléculas da série MSO e MSP ficaram classificados da seguinte maneira:

MSO: 20>01>14>10>07>02>13>05>04

MSP: 20>07>10>02>05>14>04>01>13

Como menores valores de IC₅₀ são os melhores resultados para esta análise, a molécula MSO04 e a MSP13 apresentaram-se como as mais promissoras contra a espécie *Leishmania Amazonensis*. Para a MSO04 o valor dela já foi obtido experimentalmente, pelo grupo de colaboração experimental. Destaca-se a MSP13 que foi obtida somente teoricamente, porém é necessária uma validação experimental deste resultado⁵⁸ e quando for obtido o valor de IC₅₀ experimental desta molécula, e caso ela realmente seja a melhor entre todas da série MSP, será um resultado muito interessante no que se diz respeito a modelos preditivos de análise biológica.

Importante ressaltar que tanto para a MSO04 quanto para MSP13 as estruturas utilizadas para a realização dos cálculos que foram feitos a fim de se

obter o valor da atividade biológica teórica, foram as estruturas que apresentaram a maior população dentre as conformações existentes destas moléculas.

Portanto, com a análise dos resultados obtidos, principalmente dos parâmetros químicos calculados e dos valores teóricos de IC₅₀, as moléculas MSO04 e MSP13, irão apresentar os melhores resultados para atividade biológica contra a espécie *L. Amazonensis*, para suas respectivas séries. Porém ressalta-se que esta metodologia para prever a atividade biológica contra a *Leishmania* pode ser otimizada a partir do momento que se obtiver mais dados experimentais destes valores para serem usados no ajuste da Equação 51.

5. CAPÍTULO 5
CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste trabalho foram estudados duas séries de moléculas inéditas, MSO e MSP, obtendo resultados das geometrias mais estáveis para cada uma, as conformações a partir da rotação de duas ligações simples que estas moléculas apresentam, a análise populacional das conformações mais estáveis, cargas, orbitais moleculares de fronteira, os mapas de potencial eletrostático, alguns parâmetros químicos, IC_{50} teórico e também o coeficiente de partição octanol/água.

Para ambas as séries foi possível observar que nem sempre a geometria inicialmente otimizada é a mais estável e após executar o cálculo variando os diedros das ligações, denominados de θ e φ , em alguns casos, devido as interações intramoleculares, as moléculas ficavam mais estáveis possuindo outras conformações, principalmente quando o diedro φ rotaciona cerca de 180° . Analisou-se também as conformações mais estáveis a fim de saber a população destas. Determinando a população conformacional das moléculas, em alguns casos o mínimo global da superfície de energia potencial não era o mínimo real, uma vez que ao otimizar as outras conformações que foram forçadas a possuir determinada estrutura na SEP, possuíam uma menor energia e isto ficou claro ao quantizar a população dos confórmeros.

Porém, os cálculos seguintes foram todos realizados para as conformações que apresentavam a menor energia eletrônica nuclear na superfície, devido a ordem cronológica que foram realizados todos os cálculos, sendo esta uma lacuna que ficou no trabalho, pois fica interessante a análise e a comparação com as outras conformações que também foram os mínimos de energia na SEP.

Em relação aos orbitais moleculares é notável a diferença entre algumas moléculas da série MSO, possuindo regiões de densidade eletrônica diferentes mesmo em moléculas isoeletrônicas como no caso da MSO02 e MSO07, principalmente no HOMO, e essa diferença provavelmente está relacionada com o diedro φ que é cerca de 180° diferente para as duas moléculas, outra possibilidade é que a posição do substituinte também tenha uma influência neste resultado, e talvez isto possa influenciar em resultados biológicos.

Para os mapas de potencial eletrostático também houve uma diferença entre as moléculas da mesma série, as divergências observadas provavelmente são devido a diferença no ângulo diédrico entre o anel tetraidropirimidina e o anel pirazólico.

Com a análise dos parâmetros químicos obtidos é possível compreender algumas propriedades um pouco melhor das moléculas estudadas e estes parâmetros podem fornecer informações preliminares sobre a atividade biológica, porém é necessário estar em conjunto com outros resultados, uma vez que a geometria e propriedades eletrônicas também irão influenciar nos resultados na medida da inibição. Inclusive para as moléculas MSP que se tem resultados de IC₅₀ (MSP01, MSP02 e MSP04) analisando um único parâmetro não irá resultar no melhor valor de IC₅₀, de acordo com a literatura as macromoléculas biológicas são macias, então levando isso em conta a MSP04 iria apresentar o melhor valor de inibição, por ser a mais macia. Porém o melhor resultado experimental que se tem é para a MSP01.

Analisando estas propriedades em conjunto se torna possível realizar um modelo matemático de QSAR a fim de se obter alguma propriedade biológica, como o IC₅₀, que já possui alguns valores experimentais. Portanto ao ser feito este modelo preditivo para a análise da atividade biológica, notou-se que a MSP04, a qual já se tinha o valor experimental, dentre todas as moléculas desta série apresentou o melhor valor de inibição.

Para as moléculas da série MSP, a MSP13 apresentou o melhor resultado, porém para esta molécula não se tem o valor experimental. Portanto, quando o grupo de colaboração experimental obtiver os resultados de IC₅₀ fica interessante a comparação entre os valores obtidos pelo modelo preditivo e os experimentais, podendo validar ou não o modelo, uma vez que com quanto mais dados experimentais melhor será o ajuste do modelo matemático de QSAR proposto.

Outro resultado interessante obtido a fim de entender a atividade biológica destes potenciais fármacos foi o LogP teórico, no qual os resultados foram considerados bons de acordo com a literatura. Já que para todas as moléculas em estudo o valor de LogP ficou entre 0-5, que é um valor considerado ideal para absorção ou permeabilidade em membranas e até mesmo para biodisponibilidade oral de fármacos.

Portanto, com os resultados obtidos para atividade biológica os melhores potenciais fármacos em estudo para cada uma das séries são MSP04 e MSP13, já que de acordo com o modelo preditivo proposto elas apresentaram os melhores valores para IC₅₀ contra a espécie *Leishmania Amazonensis*, além do mais tanto essas moléculas quanto todas as outras em estudo apresentaram valores ideais de

LogP, o que indicam que elas irão possuir boa permeabilidade e absorção no organismo e inclusive podem apresentar uma boa disponibilidade oral.

REFERÊNCIAS

1 NAGLE, A.S.. et al. Recent Developments in Drug Discovery for Leishmaniasis and Human African Trypanosomiasis. **Chem. Rev.**, v. 114, n. 22, p. 11305–11347, 2014.

DNDi (2018). Towards a new generation of treatments for leishmaniasis. 1–20.

3 NO, J.H. Visceral leishmaniasis: Revisiting current treatments and approaches for futures discoveries. **Acta Tropica**, v. 155, p. 113–123, 2016.

4 EMAMI, S. An overview of azoles targeting sterol 14 α -demethylase for antileishmanial therapy. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 135, p. 241–259, 2017.

CDC-DPDx Parasites – Leishmaniasis.
<https://www.cdc.gov/parasites/leishmaniasis/biology.html>.

6 VANNIER-SANTOS, M.A.; Martiny, A.; de Souza, W. Cell Biology of Leishmania spp.: Invading and Evading. **Current Pharmaceutical Design**, v. 8, n. 4, p. 297–318, 2002.

7 RITTING, M.G.; Bogdan, C. Leishmania-Host-cell Interaction: Complexities and Alternative Views. **Parasitol.**, v. 16, n. 7, p. 292–297, 2000.

8 SOARES-BEZERRA-, R.J.; Leon, L.; Genestra, M. Recentes avanços da quimioterapia das leishmanioses: moléculas intracelulares como alvo de fármacos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 40, n. 2, p. 139–149, 2004.

9 STEVERDING, D. **The history of leishmaniasis**. Parasites & Vectors, 2017.

10 ROSS, R. Further Notes on Leishman's Bodies. **The British Medical Journal**, v. 2, p. 1401, 1903.

11 HOARE, C.A. Early Discoveries Regarding The Parasite of Oriental Sore. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 32, n. 1, p. 67–92, 1938.

12 DESPOMMIER, D. D.; GWADZ, R. W.; HOTEZ, P.J. **Parasitic Diseases**. Nova Iorque: Springer-Verlag, 1994.

13 LAINSON, R. The Neotropical Leishmania species: a brief historical review of their discovery, ecology and taxonomy. **Rev Pan-Amaz Saude**, v. 32, p. 1–13, 2010.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE Leishmaniasis.
<http://www.who.int/leishmaniasis/disease/en/>.

15 DORVAL, M.E.M.C.. et al Ocorrência de leishmaniose tegumentar Americana no Estado do Mato Grosso do Sul associada à infecção por Leishmania (Leishmania) amazonensis. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 39, n. 1, p. 43–46, 2006.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE Clinical forms of the leishmaniasis.
http://www.who.int/leishmaniasis/clinical_forms_leishmaniasis/en/.

17 LÓPEZ, R.E.S. Proteases de Leishmania: Novos alvos para o

desenvolvimento racional de fármacos. **Química Nova**, v. 33, n. 7, p. 1541–1548, 2010.

18 BALANÃ, R.. et al. The Pharmacology of Leishmaniasis. **General Pharmacology**, v. 30, n. 4, p. 435–443, 1998.

19 DESJEUX, P. Leishmaniasis: current situation and new perspectives. **Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases**, v. 27, p. 305–318, 2004.

20 PEARSON, R. D.; SOUSA, A.Q. Clinical Spectrum of Leishmaniasis. **Clinical Infectious Diseases**, v. 22, n. 1, p. 1–13, 1996.

21 COSTA, J.M.L.. et al. Leishmaniose Cutânea Difusa (LCD) no Brasil após 60 anos de sua primeira descrição. **Gazeta Médica da Bahia**, v. 22, n. 1, p. 1–13, 2009.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE Clinical forms of the leishmaniasis. http://www.who.int/leishmaniasis/clinical_forms_leishmaniasis/en/index1.html.

23 PAVLI, A.; MALTEZOU, H.C. Leishmaniasis, an emerging infection in travelers. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 14, n. 12, p. e1032–e1039, 2010.

24 SINGH, O. P.; SUNDAR, S. Developments in Diagnosis of Visceral Leishmaniasis in the Elimination Era. **Journal of Parasitology Research**, v. 2015, p. 1–10, 2015.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (2018). Clinical forms of the leishmaniasis. http://www.who.int/leishmaniasis/clinical_forms_leishmaniasis/en/index2.html.

26 MUKHOPADHYAY, D.. et al. Post kala-azar dermal leishmaniasis: an unresolved mystery. **Trends in Parasitology**, v. 30, n. 2, p. 65–74, 2014.

27 GANGULY, S.. et al. Post-Kala-azar dermal leishmaniasis – an overview. **International Journal of Dermatology**, v. 49, p. 921–931, 2010.

28 SINGH, O.P.. et al. Current challenges in treatment options for visceral leishmaniasis in India: a public health perspective. **Infectious Diseases of Poverty**, v. 5, n. 19, p. 1–15, 2016.

29 COTA, G.F.. et al. Leishmania-HIV Co-infection; Clinical Presentation and Outcomes in an Urban Area in Brazil. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 8, n. 4, p. 1–7, 2014.

30 SANTOS-OLIVEIRA, J.R.. et al. High levels of T lymphocyte activation in Leishmania-HIV-1 co-infected individuals despite low HIV viral load. **BMC Infectious Diseases**, v. 10, n. 358, p. 1–6, 2010.

31 BARRETO-de-SOUZA, V.. et al. Increased Leishmania Replication in HIV-1-Infected Macrophages Is Mediated by Tat Protein through Cyclooxygenase-2 Expression and Prostaglandin E2 Synthesis. **Journal Infectious Disease**, v. 194, n. 6, p. 846–854, 2006.

32 SILVA, M.R.B.. et al. Performance of two immunochromatographic tests for diagnosis of visceral leishmaniasis in patients coinfecting with HIV. **Parasitology Research**, v. 117, p. 419–427, 2018.

- 33 RITMEIJER, K.. et al. A Comparison of Miltefosine and Sodium Stibogluconate for Treatment of Visceral Leishmaniasis in an Ethiopian Population with High Prevalence of HIV Infection. **Clinical Infectious Diseases**, v. 43, p. 357–364, 2006.
- 34 ORYAN, A.; AKBARI, M. Worldwide risk factors in leishmaniasis. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 9, n. 10, p. 925–932, 2016.
- 35 LINDOSO, J.A. et al Visceral Leishmaniasis and HIV Coinfection in Latin America. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 8, n. 9, p. 1–9, 2014.
- 36 JIMÉNEZ-ANTÓN, M.D.; García-calvo, E.; et al. European Journal of Pharmaceutical Sciences Pharmacokinetics and disposition of miltefosine in healthy mice and hamsters experimentally infected with *Leishmania infantum*. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 121, p. 281–286, 2018.
- 37 VELÁSQUEZ, A.M.A.. et al. Efficacy of Binuclear Cyclopalladated Compound Therapy for Cutaneous Leishmaniasis in the Murine Model of Infection with *Leishmania amazonensis* and Its Inhibitory Effect on Topoisomerase 1B. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 61, n. 8, p. 1–15, 2017.
- 38 CHAMPOUX, J.J. DNA topoisomerase: Structure, Function, and Mechanism. **Annu. Rev. Biochem**, v. 70, p. 2001, 2001.
- 39 DAS, B.B.. et al. Reconstitution and functional characterization of the unusual bi-subunit type I DNA topoisomerase from *Leishmania donovani*. **FEBS Letters**, v. 564, p. 81–88, 2004.
- 40 CHAWLA, B.; MADHUBALA, R. Drug targets in *Leishmania*. **Journal of Parasitic Diseases**, v. 34, n. 1, p. 1–13, 2010.
- 41 D'ANNESSA, I.; CASTELLI, S.; DESIDERI, A. Topoisomerase 1B as a Target Against Leishmaniasis. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 15, n. 3, p. 203–210, 2015.
- 42 Reguera, R.M.; Bala, R.; et al. European Journal of Medicinal Chemistry Antileishmanial effect of new indeno-1,5-naphthyridines, selective inhibitors of *Leishmania infantum* type IB DNA topoisomerase. v. 124, p. 740–749, 2016.
- 43 SUNDAR, S.; OLLIARO, P.L. Miltefosine in the treatment of leishmaniasis: Clinical evidence for informed clinical risk management. **Therapeutics and Clinical Risk Management**, v. 3, n. 5, p. 733–740, 2007.
- 44 BASTOS, M.M.. et al Quimioterapia Antileishmania: Uma Revisão da Literatura. **Revista Virtual de Química**, v. 8, n. 6, p. 2072–2104, 2016.
- 45 Rath, S.; Trivelin, L.A.; et al. Antimoniais Empregados no Tratamento da Leishmaniose: Estado da Arte. **Química Nova**, v. 26, n. 4, p. 550–555, 2003.
- 46 LIMA, E.B.. et al. Tratamento da leishmaniose tegumentar Americana. **Educação Médica Continuada**, v. 82, n. 2, p. 111–124, 2007.

- 47 PARIS, C.. et al. Miltefosine induces apoptosis-like death in *Leishmania donovani* promastigotes. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 48, n. 3, p. 852–859, 2004.
- 48 Chai, Y.; Yan, S.; et al. Complexation of antimony (Sb V) with guanosine Formation of both mono- and bis-adducts. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 99, p. 2257–2263, 2005.
- 49 Demicheli, C.; Frézard, F.; et al. Antimony (V) complex formation with adenine nucleosides in aqueous solution. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1570, p. 192–198, 2002.
- 50 Raychaudhury, B.; Banerjee, S.; et al. Antiparasitic activity of a triphenyl tin complex against *Leishmania donovani*. **Acta Tropica**, v. 95, p. 1–8, 2005.
- 51 Cereghetti, M.; Carreira, E.M. Amphotericin B : 50 Years of Chemistry and Biochemistry. **Synthesis**, n. 6, p. 914–942, 2006.
- 52 Vicens, Q.; Westhof, E. Crystal Structure of Paromomycin Docked into the Eubacterial Ribosomal Decoding A Site Mode. **Structure**, v. 9, n. 1, p. 647–658, 2001.
- 53 McQueen, C.A. **Comprehensive Toxicology**. London: Elsevier, 2018.
- 54 Lewars, E. **Computational Chemistry Introduction to the Theory and Applications of Molecular and Quantum Mechanics**. New York: Kluwer Academic Publishers, 2004.
- 55 Young, D.C. **Computational Drug Design A Guide for Computational and Medicinal Chemist**. Hoboken: John Wiley & Sons, 2009.
- 56 Méndez-lucio, O. Computational Structure – Activity Relationship Studies of Epigenetic Target Inhibitors. In: **Epi-Informatics**. Mexico City: Elsevier Inc., 2016, p. 359–384.
- 57 HANSCH, C.; MALONEY, P. P.; FUJITA, T.; MUIR, R.M. Correlation of Biological Activity of Phenoxyacetic Acids with Hammett Substituent Constants and Partition Coefficients. **Nature**, v. 194, n. 4824, p. 178–180, 1962.
- 58 Cherkasov, A.; Muratov, E.N.; et al. QSAR Modeling : Where Have You Been ? Where Are You Going To ? **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 57, p. 4977–5010, 2014.
- 59 Alves, V.M.; Braga, R.C.; et al. Quimioinformática: Uma Introdução. **Quim. Nova**, v. 41, n. 2, p. 202–212, 2018.
- 60 Braga, R.C.; Alves, V.M.; et al. Pred-hERG : A Novel web-Accessible Computational Tool for Predicting Cardiac Toxicity. **Molecular Informatics**, v. 34, p. 698–701, 2015.
- 61 Crowther, G.J.; Shanmugam, D.; et al. Identification of Attractive Drug Targets in Neglected- Disease Pathogens Using an In Silico Approach. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 4, n. 8, p. 1–18, 2010.

62 Neves, B.J.; Dantas, R.F.; et al. Discovery of New Anti-Schistosomal Hits by Integration of QSAR- Based Virtual Screening and High Content Screening. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 59, p. 7075–7088, 2016.

63 Melo-filho, C.C.; Dantas, R.F.; et al. QSAR-Driven Discovery of Novel Chemical Scaffolds Active against *Schistosoma mansoni*. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 56, p. 1357–1372, 2016.

64 Zhang, L.; Fourches, D.; et al. Discovery of Novel Antimalarial Compounds Enabled by QSAR-Based Virtual Screening. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 53, p. 475–492, 2013.

65 Rocha, C.A.; Sanches, P.R.S.; et al. The Octahydroindene Carboxyl Substructure from Dihydrobetulinic Acid is Essential to Inhibit Topoisomerase IB from. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 27, n. 3, p. 591–598, 2016.

66 Ban, F.; Dalal, K.; et al. Best Practices of Computer-Aided Drug Discovery: Lessons Learned from the Development of a Preclinical Candidate for Prostate Cancer with a New Mechanism of Action. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 57, p. 1018–1028, 2017.

67 Merlino, A.; Vieites, M.; et al. Homology modeling of *T. cruzi* and *L. major* NADH-dependent fumarate reductases: Ligand docking, molecular dynamics validation, and insights on their binding modes. **Journal of Molecular Graphics and Modelling**, v. 48, p. 47–59, 2014.

68 Rajasekaran, R.; Chen, Y.P. Potential therapeutic targets and the role of technology in developing novel antileishmanial drugs. **Drug Discovery Today**, v. 20, n. 8, 2015.

69 Giarolla, J.; Ferreira, E.I. Drug Design for Neglected Disease in Brazil. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 15, p. 220–242, 2015.

70 SANTOS, M.S.. et al Synthesis and Antileishmanial Activity of New 1-Aryl-1H-Pyrazole-4- Carboximidamides Derivatives. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 22, n. 2, p. 352–358, 2011.

71 Patrick, D.A.; Bakunov, S.A.; et al. European Journal of Medicinal Chemistry Synthesis and antiprotozoal activities of dicationic bis (phenoxyethyl) benzenes, bis (phenoxyethyl) naphthalenes, and bis (benzyloxy) naphthalenes. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 44, n. 9, p. 3543–3551, 2009.

72 TORRES-GÓMES, H.. et al Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters Design, synthesis and in vitro antiprotozoal activity of benzimidazole- pentamidine hybrids. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 18, p. 3147–3151, 2008.

73 FARIA, J.V.. et al Synthesis and activity of novel tetrazole compounds and their pyrazole-4-carbonitrile precursors against *Leishmania* spp. **Bioorganic & Medicinal**

Chemistry Letters, v. 23, n. 23, p. 6310–6312, 2013.

74 BERNARDINO, A.M.R.. et al Design, synthesis, SAR, and biological evaluation of new 4-(phenylamino) thieno [2,3-b] pyridine derivatives. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 14, p. 5765–5770, 2006.

75 FAIÕES, V.S.. et al Effectiveness of Novel 5- (5-amino-1-aryl-1 H -pyrazol- 4-yl) -1 H -tetrazole Derivatives Against Promastigotes and Amastigotes of *Leishmania amazonensis*. **Chem Biol Drug Des**, v. 83, p. 272–277, 2014.

76 SANTOS, M.S.. et al Synthesis and antileishmanial evaluation of 1-aryl-4- (4 , 5-dihydro-1 H -imidazol- 2-yl) -1 H -pyrazole derivatives. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 21, p. 7451–7454, 2011.

77 Zulfiqar, B.; Shelper, T.B.; et al. Leishmaniasis drug discovery : recent progress and challenges in assay development. **Drug Discovery Today**, v. 22, n. 10, p. 1516–1531, 2017.

78 Scotti, L.; Ishiki, H.; et al. In-silico Analyses of Natural Products on *Leishmania* Enzyme Targets. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 15, p. 253–269, 2015.

79 Mandlik, V.; Singh, S. Integrative approaches for identification of novel ISCL inhibitors in Leishmaniasis: A computational insight into the structure. **Gene Reports**, v. 4, p. 162–168, 2016.

80 Desai, P. V; Patny, A.; et al. Identification of Novel Parasitic Cysteine Protease Inhibitors Using Virtual Screening . 1 . The ChemBridge Database. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 47, p. 6609–6615, 2004.

81 Cramer, C.J. **Essentials of Computational Chemistry Theories and Models**. Minnesota: Wiley, 2004.

82 Davies, D.R.; Mushtaq, A.; et al. The Structure of the Transition State of the Heterodimeric Topoisomerase I of *Leishmania donovani* as a Vanadate Complex with Nicked DNA. **J. Mol. Biol.**, v. 357, p. 1202–1210, 2006.

Frisch, M.J., Trucks, G.W., Schlegel, H.B., Scuseria, G.E., Fox, D.J., et al. (2009). Gaussian 09.

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

85 Jensen, F. **Introduction to Computational Chemistry**. Odense: John Wiley & Sons, 2007.

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

87 Levine, I.N. **Quantum Chemistry**. New York: Pearson, 2014.

88 Giju, K.T.; Proft, F. De; et al. Comprehensive Study of Density Functional

Theory Based Properties for Group 14 Atoms and Functional Groups, $-XY_3$ ($X = C, Si, Ge, Sn, Pb$, Element 114; $Y = CH_3, H, F, Cl, Br, I, At$). **J. Phys. Chem. A**, v. 109, p. 2925–2936, 2005.

89 Maitra, N.T. Perspective: Fundamental aspects of time-dependent density functional theory. **Journal of Chemical Physics**, v. 144, n. 22, 2016.

90 Jr, J.R.P. Modelos contínuos do solvente: Fundamentos. **Quim. Nova**, v. 29, n. 3, p. 535–542, 2006.

91 Ben-Naim, A. **Molecular Theory of Solutions**. New York: Oxford University Press, 2006.

92 Nieto-draghi, C.; Fayet, G.; et al. A General Guidebook for the Theoretical Prediction of Physicochemical Properties of Chemicals for Regulatory Purposes. **Chem. Rev.**, v. 115, p. 13093–13164, 2015.

93 Lewars, E.G. **Computational Chemistry Introduction to the Theory and Applications of Molecular and Quantum Mechanics**. Peterborough: Springer, 2016.

94 Allen, M.P.; Tildesley, D.J. **Computer Simulation of Liquids**. New York: Oxford University Press, 2017.

95 Mennuci, B.; Cammi, R. **Continuum Solvation Models in Chemical Physics**. Chichester: John Wiley & Sons, 2007.

96 Marenich, A. V; Cramer, C.J.; et al. Universal Solvation Model Based on Solute Electron Density and on a Continuum Model of the Solvent Defined by the Bulk Dielectric Constant and Atomic Surface Tensions. **J. Phys. Chem. B**, v. 113, p. 6378–6396, 2009.

97 Leach, A.R. **Molecular Modelling Principles and Applications**. Harlow: Pearson Education Limited, 2001.

Venâncio, M.F. (2013). Estudo Termodinâmica da Rotação Interna em Etanos Substituídos.

Franco, M.L. (2008). Análise Conformacional e Correções Térmicas em Moléculas de Cicloalcanos e Etano-Substituídos Análise Conformacional e Correções Térmicas em Moléculas de Cicloalcanos e Etanos-Substituídos Mauro Lúcio Franco.

100 Hehre, W.J.; Ditchfield, R.; et al. Self — Consistent Molecular Orbital Methods . XII . Further Extensions of Gaussian — Type Basis Sets for Use in Molecular Orbital Studies of Organic Molecules Self-Consistent Molecular Orbital Methods . XII . Further Extensions of Gaussian-Type Basis Sets for Use in Molecular Orbital Studies of Organic Molecules. v. 2257, n. 1972, 2010.

101 Zhao, Y.; Truhlar, D.G. The M06 suite of density functionals for main group thermochemistry , thermochemical kinetics , noncovalent interactions , excited states , and transition elements : two new functionals and systematic testing of four M06-class functionals and 12 other functionals. p. 215–241, 2008.

- 102 Sayin, K.; Karakas, D. Computational investigations of trans platinum (II) oxime complexes used as anticancer drug. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 188, p. 537–546, 2018.
- 103 Chattaraj, P.K.; Giri, S.; et al. Electrophilicity Index. **Chem. Rev.**, v. 111, n. 2, p. PR43-PR75, 2011.
- 104 Parthasarathi, R.; Subramanian, V.; et al. Electrophilicity index as a possible descriptor of biological activity. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 12, p. 5533–5543, 2004.
- 105 Duarte, H.A. Índices de reatividade química a partir da teoria do funcional da densidade: formalismo e perspectivas. **Quim. Nova**, v. 24, n. 4, p. 501–508, 2001.
- 106 Domingo, L.R.; Patricia, P. The nucleophilicity N index in organic chemistry. **Organic & Biomolecular Chemistry**, v. 9, p. 7168–7175, 2011.
- 107 Yan, Y.; Li, W.; et al. Electrochemical and quantum chemical study of purines as corrosion inhibitors for mild steel in 1 M HCl solution. **Electrochimica Acta**, v. 53, p. 5953–5960, 2008.
- 108 Domingo, L.R.; Aurell, Â.; et al. Quantitative characterization of the global electrophilicity power of common diene / dienophile pairs in Diels ± Alder reactions. **Tetrahedron**, v. 58, p. 4417–4423, 2002.
- 109 Miessler, G.L.; Fischer, P.J.; et al. **Inorganic Chemistry**. Boston: Pearson, 2014.
- 110 Huheey, J.E.; Keiter, E.A.; et al. **Inorganic Chemistry Principles of Structure and Reactivity**. Nova Iorque: HarperCollins, 1993.
- 111 Nantasenamat, C.; Virapong, C.I. Advances in computational methods to predict the biological activity of compounds. **Exp. Op. Drug Disc.**, v. 5, p. 633–654, 2010.
- 112 Barreiro, E.J.; Fraga, C.A.M. **Química medicinal: as bases moleculares da ação dos fármacos**. Porto Alegre: Artmed, 2015.
- 113 Pearson, R.G. Hard and Soft Acids and Bases. **Journal of the American Chemical Society**, v. 85, n. 22, p. 3533–3539, 1963.
- 114 Leach, A.R.; Shoichet, B.K.; et al. Prediction of Protein-Ligand Interactions. Docking and Scoring: Successes and Gaps. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 49, n. 20, p. 5851–5855, 2006.
- 115 Meng, X.-Y.; Zhang, H.-X.; et al. Molecular Docking: A powerful approach for structure-based drug discovery. **Curr Comput Aided Drug Des.**, v. 7, n. 2, p. 146–157, 2011.
- 116 Martin, Y.C. How medicinal chemists learned about log P. **Journal of Computer-Aided Molecular Design**, v. 32, p. 809–819, 2018.
- 117 Lipinski, C.A.; Lombardo, F.; et al. Experimental and computational

approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 64, p. 4–17, 2012.

APÊNDICE

Participações em eventos científicos



CERTIFICADO DE APRESENTAÇÃO

Certificamos que o Trabalho

Conformational analysis of molecules with potential antileishmania activity

de autoria de

Vinícius Bonatto
Juliana Fedoce Lopes

foi apresentado durante as atividades do XIX SIMPÓSIO BRASILEIRO DE QUÍMICA TEÓRICA, ocorrido entre os dias 12 e 17 de novembro de 2017, realizado nas dependências do Hotel Majestic, Águas de Lindóia/SP no período de 12 a 17 de Novembro de 2017.

São Paulo, 20 de Fevereiro de 2018

Professora Dra. Kaline Coutinho
Coordenadora do XIX SBQT



CERTIFICADO DE APRESENTAÇÃO

Certificamos que o trabalho

ANÁLISE CONFORMACIONAL DE MOLÉCULAS COM POTENCIAL ATIVIDADE ANTILEISHMANIA

dos autores

VINÍCIUS BONATTO, JULIANA FEDOCE LOPES

*foi apresentado na Sessão Coordenada de Apresentação Oral, no XXXI Encontro Regional da
Sociedade Brasileira de Química, ocorrido nos dias 24 a 26 de novembro de 2017.*

Itajubá/MG, 26 de novembro de 2017.

Prof. Dr. Mauricio Sílva dos Santos
Presidente do XXXI ERSBQ

Prof. Dra. Márcia Matiko Kondo
Presidente da Comissão Científica



CERTIFICADO DE APRESENTAÇÃO

Certificamos que o trabalho

ANÁLISE CONFORMACIONAL DE MOLÉCULAS COM POTENCIAL ATIVIDADE ANTI-LEISHMANIA

dos autores

VINÍCIUS BONATTO, JULIANA FEDOCE LOPES

foi apresentado na Sessão de Pôster, no XXXI Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química, ocorrido nos dias 24 a 26 de novembro de 2017.

Itajubá/MG, 26 de novembro de 2017.

Prof. Dr. Maurício Silva dos Santos
Presidente do XXXI ERSBQ

Prof. Dra. Márcia Maitko Kondo
Presidente da Comissão Científica



XIX BRAZILIAN MEETING ON INORGANIC CHEMISTRY
VI LATIN AMERICAN MEETING ON BIOLOGICAL INORGANIC CHEMISTRY
VIII BRAZILIAN MEETING ON RARE EARTHS

CERTIFICATE


We certify that the work

Study of new ligands with potential activity against *Leishmania*

Author(s): **Vinicius Bonatto and Juliana Fedoce Lopes**

was presented as **Poster** at the XIX Brazilian Meeting on Inorganic Chemistry | VI Latin American Meeting on Biological Inorganic Chemistry | VII Brazilian Meeting on Rare Earths, held in Fortaleza, Brazil, from September 24th - 28th, 2018.


Luiz G. F. Lopes
BMIC/LABIC/RE Chair


Victor M. Deflon
SBQ Inorganic Chemistry Division



XXXII ENCONTRO
REGIONAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE
QUÍMICA
MINAS GERAIS

CERTIFICADO

A Comissão Organizadora certifica que
VINÍCIUS BONATTO
apresentou o trabalho intitulado

Determinação do IC₅₀ teórico para moléculas com potencial atividade antileishmania
tendo como coautor(es)
Guilherme A. B. Soares, Juliana Fedoce Lopes
durante o XXXII Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química – XXXII ERSBQ-MG,
no período de 09 a 11 de novembro de 2018.
Juiz de Fora, 11 de novembro de 2018.


Luiz Antônio Sodré Costa
Presidente da Comissão Organizadora

Realização:             

Patrocínio:         

Apoio:    

Secretaria Executiva