

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
PRODUTOS NATURAIS E SINTÉTICOS BIOATIVOS
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM FARMACOQUÍMICA

MAYARA BARBALHO FÉLIX

DESIGN RACIONAL DE FÁRMACOS AUXILIADO POR
COMPUTADOR COM VISTAS AO DIRECIONAMENTO DA SÍNTESE DE
NOVOS DERIVADOS HÍBRIDOS TIOFENO-INDÓLICOS PARA O
TRATAMENTO DA LEISHMANIOSE

João Pessoa/PB
2020

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
PRODUTOS NATURAIS E SINTÉTICOS BIOATIVOS
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM FARMACOQUÍMICA

MAYARA BARBALHO FÉLIX

DESIGN RACIONAL DE FÁRMACOS AUXILIADO POR
COMPUTADOR COM VISTAS AO DIRECIONAMENTO DA SÍNTESE DE
NOVOS DERIVADOS HÍBRIDOS TIOFENO-INDÓLICOS PARA O
TRATAMENTO DA LEISHMANIOSE

Trabalho de Tese apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba como requisito parcial para obtenção do título de Doutora em Farmacoquímica.

Orientador: Prof. Dr. Marcus Tullius Scotti

Coorientador: Prof. Dr. Francisco Jaime Bezerra Mendonça Junior

MAYARA BARBALHO FÉLIX

**DESIGN RACIONAL DE FÁRMACOS AUXILIADO POR
COMPUTADOR COM VISTAS AO DIRECIONAMENTO DA SÍNTESE DE
NOVOS DERIVADOS HÍBRIDOS TIOFENO-INDÓLICOS PARA O
TRATAMENTO DA LEISHMANIOSE**

Tese apresentada, avaliada e aprovada
junto ao Doutorado em Farmacoquímica
da Universidade Federal da Paraíba como
requisito parcial para obtenção do título
de Doutora.

Orientador: Prof. Dr. Marcus Tullius
Scotti

Coorientador: Prof. Dr. Francisco Jaime
Bezerra Mendonça Junior

COMISSÃO EXAMINADORA



Prof. Dr. Marcus Tullius Scotti
Presidente



Prof. Dr. Damião Pergentino de Sousa
Membro Interno - Convidado



Prof.ª. Dr.ª Maria de Fátima Vanderlei de Souza
Membro Interno - Convidado



Prof. Dr. Ricardo Olímpio de Moura
Membro Externo - Convidado



Prof.ª. Dr.ª Karen Cacilda Weber
Membro Externo - Convidado

João Pessoa / PB, 2020

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

F316d Félix, Mayara Barbalho.

Design racional de fármacos auxiliado por computador com vistas ao direcionamento da síntese de novos derivados híbridos tiofeno-indólicos para o tratamento da leishmaniose / Mayara Barbalho Félix. - João Pessoa, 2020.

137 f. : il.

Orientação: Marcus Tullius Scotti.

Coorientação: Francisco Jaime Bezerra Mendonça Junior.
Tese (Doutorado) - CCS/UFPB.

1. Farmacologia. 2. Medicamentos - Design. 3. Leishmaniose. 4. Atividade anti-Leishmanial. 5. 2-amino-tiofeno. 6. Indol. 7. QSAR. I. Scotti, Marcus Tullius. II. Mendonça Junior, Francisco Jaime Bezerra. III. Título.

UFPB/BC

CDU 615:7.05(043)

Dedico aos meus filhos (incluindo minha enteada, Júlia),
meu esposo, meus pais, e demais familiares,
pelo crédito e apoio.

AGRADECIMENTOS

A Deus por todas as bênçãos derramadas na minha vida, por toda as conquistas acadêmicas, por todas as preces ouvidas nos momentos mais difíceis.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Marcus Tullius por toda contribuição e conhecimento proporcionado para a concretização deste trabalho. Ao meu co-orientador e por que não dizer, “pai acadêmico”, Prof. Dr. Francisco Jaime, que sempre acreditou em mim, me incentivou, me ajudou, enfim, sempre esteve comigo em toda a trajetória acadêmica, desde meus primeiros passos na ciência enquanto aluna de IC.

A equipe de alunos pesquisadores do Laboratório de Quimioinformática, pelo apoio e incentivo durante esses quatro anos, em especial a Renata e Chonny, duas pessoas que me ensinaram muito e serei eternamente grata. Agradeço também a todos que contribuíram de alguma forma para a realização deste estudo.

A minha querida amiga, Geovana, por ter acreditado em mim, por todas as palavras de conforto nos momentos que mais bateu desespero e por todo amor e cuidado.

Aos meus pais, Joziane Barbalho e Severino Monteiro, irmão, Caio Barbalho, pelo apoio emocional e/ou financeiro. Por todas as palavras de conforto e incentivo que sempre foram muito edificantes para minha vida. Por acreditarem no meu potencial, por todo amor e dedicação. Devo muito a eles, sou muito grata.

Aos meus tios e prima, Beatriz Barbalho, Gerônimo Neves e Luiza, por terem sempre acreditado no meu potencial e por todos os cuidados com meus dois filhos nesta quarentena enquanto eu me dedicava a escrita da tese.

Aos meus filhos, Otto e Ravi, que chegaram na minha vida durante esses quatro anos de doutorado e vieram pra me ensinar muito sobre superação. Obrigada pela paciência (mesmo sem entenderem) com a mamãe, por precisar retirar vocês de casa para conseguir escrever. E a minha enteada, Júlia Félix, por todas as conversas, apoio e toda a ajuda com os irmãos enquanto eu escrevia este trabalho. E ao meu esposo, George

Glauber, por ter seguido comigo em mais essa etapa, sendo minha sustentação e também por todos os momentos de paciência e companheirismo.

“Em tudo dai graças, porque esta é a vontade de Deus em Cristo Jesus para
convosco.”

(1 Tessalonicenses 5:18)

RESUMO

A quimioinformática se apresenta por meio de uma gama de aplicações no campo do design de medicamentos de forma a contribuir na identificação dos novos compostos contra uma variedade de doenças. Entre estas, a leishmaniose, cujo tratamento atual requer aprimoramento por acarretar diversos efeitos colaterais e não ter eficácia desejada. Com isso, este estudo visou o planejamento de novas moléculas derivadas do 2-aminotiofeno indólico usando ferramentas computacionais, síntese e avaliação biológica de forma a compreender sua eficácia contra *Leishmania amazonensis* (sp.). Além disso, prever a atividade destes novos compostos frente a outras três espécies de *Leishmania*, utilizando a plataforma virtual Chembench. Para isso, com base na estrutura química dos híbridos de tiofeno-indol, foram construídos modelos de regressão e realizados o *docking* molecular. Os dados obtidos foram utilizados como base para o projeto de 92 novas moléculas com pIC₅₀, sendo seis compostos selecionados para a síntese e para realização de ensaios biológicos (atividade leishmanicida e citotoxicidade). Em paralelo, partindo de bancos de dados de plataformas virtuais (ChemBl e PubMed), foram construídos modelos de predição qualitativos no Chembench, de forma que, foram preditas as atividades dos novos derivados frente as espécies: *L. donovani*, *L. infantum* e *L. braziliensis*, utilizando descritores CDK e DRAGON 7 e os algoritmos Random Forest (RF) e kNN (MuDRA). Assim, por meio dos modelos de predição e *docking* molecular, pode-se inferir as características que poderiam ter influências positivas na atividade leishmanicida dos compostos planejados. Dos compostos sintetizados, um terço apresentou atividades anti-*Leishmania* promissoras com CI₅₀ variando de 2,16 e 2,97 µM (contra formas promastigotas) e 0,9 e 1,71 µM (contra formas amastigotas), com índices de seletividade (IS) maiores do que os dos fármacos de referência utilizados e apresentando baixa citotoxicidade frente à macrófagos. Dos modelos obtidos no Chembench. Selecionou-se duas estruturas com boa predição para duas espécies (**37** e **87**) e uma em comum com as três espécies estudadas (**42**), estrutura semelhante a derivados tiofênicos indólicos já avaliados biologicamente. Esses resultados demonstram a capacidade do planejamento racional de medicamentos baseado na Relação Quantitativa Estrutura-Atividade (QSAR) de prever moléculas com potencial leishmanicida promissor e confirmar o potencial de híbridos tiofeno-indol como potenciais novos agentes leishmaniais.

Palavras-Chave: QSAR; Design de drogas; 2-amino-tiofeno; indol; Atividade anti-Leishmanial; *Leishmania* (spp.).

ABSTRACT

Chemoinformatics is presented through a range of applications in the field of drug design in order to contribute to the identification of new compounds against a variety of diseases. Among these, leishmaniasis, whose current treatment requires improvement because it has several side effects and does not have the desired efficacy. With this, this study aimed at the planning of new molecules derived from the indolic 2-aminothiophene using computational tools, synthesis and biological evaluation in order to understand its effectiveness against *Leishmania amazonensis* (sp.). In addition, to predict the activity of these new compounds against three other *Leishmania* species, using the virtual platform ChEMBL. For this, based on the chemical structure of the thiophene-indole hybrids, regression models were constructed and molecular docking was performed. The data obtained were used as the basis for the design of 92 new molecules with pIC₅₀, with six compounds selected for synthesis and for carrying out biological tests (leishmanicidal activity and cytotoxicity). In parallel, starting from databases of virtual platforms (ChEMBL and PubMed), qualitative prediction models were built in the ChEMBL, so that the activities of the new derivatives were predicted against the species: *L. donovani*, *L. infantum* and *L. braziliensis*, using descriptors CDK and DRAGON 7 and the algorithms Random Forest (RF) and kNN (MuDRA). Thus, through the prediction models and molecular docking, one can infer the characteristics that could have a positive influence on the leishmanicidal activity of the planned compounds. Of the synthesized compounds, one third had promising anti-*Leishmania* activities with IC₅₀ ranging from 2.16 and 2.97 μ M (against promastigote forms) and 0.9 and 1.71 μ M (against amastigote forms), with selectivity indexes (SI) greater than those of the reference drugs used and presenting low cytotoxicity against macrophages. From the models obtained in the ChEMBL. Two structures were selected with good prediction for two species (**37** and **87**) and one in common with the three species studied (**42**), a structure similar to indole thiophene derivatives already biologically evaluated. These results demonstrate the ability of rational drug planning based on the Quantitative Structure-Activity Relationship (QSAR) to predict molecules with promising leishmanicidal potential and confirm the potential of thiophene-indole hybrids as potential new leishmanial agents.

Keywords: QSAR; Drug design; 2-aminothiophene; Indol; Anti-Leishmanial activity; *Leishmania* (spp.).

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1 - R^2 Fitting.....	43
Equação 2 - R^2 Adjusted.....	44
Equação 3 - Q^2	44
Equação 4 . Modelo de regressão 17.....	45
Equação 5 - Descritor MATS6.....	46
Equação 5 - Modelo de regressão 29.....	47
Equação 7 - Descritor RDF.....	48
Equação 8 - Descritor R3m+.....	49
Equação 9 - Especificidade (Matriz de confusão).....	62
Equação 10 - Sensibilidade (Matriz de confusão).....	62
Equação 11 - Acurácia (Matriz de confusão).....	62
Equação 12 - Coeficiente de correlação de Matthews (MCC).....	62

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 - Síntese de derivados 2-aminotiofênicos através da reação de Gewald	27
Esquema 2 - Procedimento geral de síntese dos derivados 2-amino tiofenos indólicos.....	39

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura do tiofeno.....	27
Figura 2 - Grupamento Indol.....	28
Figura 3 - Representações das interações obtidas no Molegro entre as três substâncias selecionadas e o ligante PDB e a Arginase (4IU1).....	56
Figura 4 - Substâncias em comum com duas ou três das enzimas estudadas.....	58
Figura 5 - Ilustração das interações realizadas entre os compostos avaliados e o ligante da enzima 3QV8.....	59
Figura 6 - Dados obtidos MuDRA para <i>L. braziliensis</i>	68
Figura 7 - Estrutura dos compostos 37 e 87, observados em comum entre duas espécies avaliadas.....	77
Figura 8 - Estrutura do composto 42 comparado com o SB-83.....	78
Figura 9 - Estrutura do TN8-7 (2016).....	78
Figura 10 - Espectro de ¹ H RMN do composto 19.....	80
Figura 11 - HRMS do composto 42.....	82
Figura 12 - Ilustração das estruturas dos compostos 84 e 91.....	84
Figura 13 - Composto TN8.....	85
Figura 14 - Estrutura dos compostos 28, 42 e 43.....	85
Figura 15 - Influência da posição do substituinte ligado ao anel indol na atividade leishmanicida (CI ₅₀) e no índice de seletividade (IS).....	86
Figura 16 - ORTEP-3 do composto 19, mostrando os elipsóides de numeração e deslocamento de átomos no nível de probabilidade de 50%.....	88
Figura 17 - Mapa do volume de superfície polar dos compostos 19 e 42.....	89

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Curva ROC of <i>L. donovani</i>	63
Gráfico 2 - Curva ROC de <i>L. braziliensis</i>	68
Gráfico 3 - Curva ROC of <i>L. infantum</i>	72

LISTA DE TABELA

Tabela 1 - Dados referentes aos 2-aminotiofenos indólicos.....	31
Tabela 2 - Proteínas alvo para <i>Leishmania mexicana</i>	36
Tabela 3 - Modelo de regressão 17.....	44
Tabela 4 - Modelo de regressão 29.....	47
Tabela 5 - Média do pIC ₅₀ predito das moléculas selecionadas (30) para a realização do <i>docking</i>	50
Tabela 6 - Dados de <i>docking</i> das moléculas com melhores interações com Arginase (4IU1), Glicerol-3-fosfato desidrogenase (1JDJ) e Piruvato quinase (3QV8).....	54
Tabela 7 - Resultado do <i>docking</i> molecular para os 30 novos derivados 2-aminotiofenos indólicos.....	56
Tabela 8 - Valores para validação de modelos de acordo com o número de árvores e descritores.....	61
Tabela 9 - Parâmetros dos resultados obtidos nos modelos <i>Random Forest</i> de <i>L. donovani</i>	62
Tabela 10 - Resultados de predição para formas amastigotas de <i>L. donovani</i>	63
Tabela 11 - Resultados obtidos pelo MuDRA para as duas formas parasitárias de <i>L. donovani</i>	65
Tabela 12 - Moléculas com resultados satisfatórios em comum com as três análises realizadas para <i>L. donovani</i>	65
Tabela 13 - Valores para validação de modelos de acordo com o número de árvores e descritores.....	67
Tabela 14 - Parâmetros dos resultados obtidos nos modelos <i>Random Forest</i> de <i>L. donovani</i>	67
Tabela 15 - Moléculas com resultados satisfatórios em comum com as três análises realizadas para promastigotas de <i>L. braziliensis</i>	69
Tabela 16 - Valores para validação dos modelos.....	70
Tabela 17 - Parâmetros dos resultados obtidos nos modelos <i>Random Forest</i> de <i>L. infantum</i>	71
Tabela 18 - Resultados da predição para formas promastigotas de <i>L. infantum</i>	72
Tabela 19 - Dados obtidos no MuDRA para as duas formas parasitárias de <i>L. infantum</i>	74
Tabela 20 - Moléculas em comum com as três análises realizadas para a forma promastigota de <i>L. infantum</i>	76
Tabela 21 - Características físico-químicas e rendimentos dos compostos.....	79
Tabela 22 - Compostos sintetizados e seus respectivos deslocamentos químicos (δ).....	81
Tabela 23 - Compostos sintetizados e seus respectivos deslocamentos químicos(δ)	82

Tabela 24 - Atividade biológica, efeitos citotóxicos contra macrófagos e índice de seletividade dos novos derivados tiofênicos indólicos.....	83
Tabela 25 - Dados de cristal, detalhes de coleta de dados e refinamento de estrutura para 19.....	87

LISTA DE ABREVIATURAS

ADP -	Adenosina difosfato
AmpB -	Anfotericina B.
ATP -	Adenosina Trifosfato
CADD -	Computer Aided Drug Design
CCD -	Cromatografia em camada delgada
CE ₅₀ -	Concentração Eficaz de 50%
CI ₅₀ -	Concentração inibitória de 50%
¹³ CRMN -	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono
3D -	Tridimensional
DMSO -	Dimetilsufóxido
DNA -	Ácido desoxirribonucleico
ESI-MS -	Espectometria de massas com ionização electrospray
GA-VSS -	Algoritmo genético
GPDH -	Glicerol – 3- fosfato
5HJA -	Estrutura cristalina da arginase em complexo com inibidor ABHDP
5HJ9 -	Estrutura cristalina da arginase em complexo com inibidor ABHPE
HRMS -	Espectometria de Massas de Alta Resolução
¹ HRMN -	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
ID -	Identificação
4IU0	Código PDB referente a arginase em complexo com inibidor ABH
4IU1 -	Código PDB referente a arginase em complexo com inibidor nor-NOHA
4IU4 -	Código PDB referente a arginase em complexo com inibidor BEC
1JDJ -	Código PDB referente a glicerol-3-fosfato desidrogenase em complexo com 2-fluoro-6-cloropurina
J774A.1 -	Linhagem de macrófagos murinos
LTA -	Leishmaniose Tegumentar Americana
1M66 -	Código PDB referente a GPDH complexada com inibidor 2-bromo-6-cloropurina
1M67 -	Código PDB referente a GPDH complexada com inibidor 2-bromo-6-hidroxi-purina
MCC -	Coeficiente de correlação de Matthews
MODI -	Índice de modelabilidade
MTT -	Brometo de 3-[4,-dimetiltiazol]-2,5-difeniltatrazolio

MVD -	Molegro Virtual Docker
PDB -	Protein data bank
pIC ₅₀ -	Concentração inibitória predita
Q ² -	Coeficiente de predição
Q ² LOO -	Coeficiente de predição Leave-one-out
Q ² BOOT -	Coeficiente de predição bootstrap
QSAR -	Quantitative Structure Actitivity Relashionship
3QV6	Código PDB referente a piruvato quinase em complexo com azul ácido 80.
3QV7	Código PDB referente a piruvato quinase em complexo com ponceau S e azul ácido 25
R ² -	Coeficiente de determinação
Rf -	Random Forest
ROC -	Receiver Operating Characteristics
Sb ⁵⁺ -	Antimoniato de Meglumina
Sb ^{III} -	Antimonial trivalente
SBF -	Soro Bovino Fetal
SDEP -	Standard deviation error in prediction
SDS -	Dodecil sulfato de sódio
V.S. -	Virtual Screening
WHO -	World Health Organization

SUMÁRIO

SUMÁRIO	19
INTRODUÇÃO	19
2 OBJETIVOS	21
2.1 OBJETIVO GERAL	21
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	21
3 REFERENCIAL TEÓRICO	22
3.1 PLANEJAMENTO DE FÁRMACOS	22
3.2 ESTUDOS <i>IN SILICO</i>	23
3.3 LEISHMANIOSE	25
3.4 DERIVADOS TIOFENOS INDÓLICOS E SEU POTENCIAL FARMACOLÓGICO	26
4 METODOLOGIA	30
4.1 MOLÉCULAS	30
4.2 DESCRITORES MOLECULARES	30
4.3 CONSTRUÇÃO DO MODELO DE PREDIÇÃO	35
4.4 DOCKING MOLECULAR	36
4.5 VOLUME DE SUPERFÍCIE POLAR	38
4.6 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO	38
4.7 ANÁLISE DA ESTRUTURA CRISTALINA POR RAIOS X DO COMPOSTO	19
4.8 MANUTENÇÃO DOS PARASITAS E CÉLULAS	39
4.9 AVALIAÇÃO <i>IN VITRO</i> DE FORMAS PROMASTIGOTAS E AMASTIGOTAS AXÊNICAS DE <i>L. amazonensis</i>	40
4.10 ENSAIO PARA ANÁLISE DA CITOTOXICIDADE <i>IN VITRO</i> EM MACRÓFAGOS (JC774A.1)	41
4.11 <i>CHEMBENCH</i>	41
4.11.1 Banco de dados	41
4.11.2 Modelo de predição	42
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
5.1 MODELOS DE PREDIÇÃO	43
5.2 ANÁLISE DO ESTUDO DE DOCKING	54
5.3 <i>CHEMBENCH</i>	60
5.3.1 <i>Leishmania donovani</i>	60
5.3.1.1 Construção de modelos de predição	60
5.3.1.2 Predição	63
5.3.2 <i>Leishmania braziliensis</i>	66
5.3.2.1 Construção dos modelos de predição	66
5.3.2.2 Predição	68
5.3.3 <i>Leishmania infantum</i>	70
5.3.3.1. Construção de modelos de predição	70
5.3.3.2 Predição	72
5.4 SÍNTESE DOS NOVOS DERIVADOS	78
5.5 AVALIAÇÃO BIOLÓGICA	83
5.6 CRISTALOGRAFIA DE RAIOS-X DO COMPOSTO 19	86
5.7 ESTUDOS <i>IN SILICO</i> X <i>IN VITRO</i> DA ATIVIDADE ANTI- <i>LEISHMANIA</i> DE DERIVADOS DE 2-AMINO-TIOFENO INDÓLICOS	88

CONCLUSÕES.....	90
REFERÊNCIAS	92
ANEXO I	105
ANEXO II – Espectros	116
ANEXO III - PRODUÇÃO ACADÊMICA DURANTE O DOUTORADO	131

INTRODUÇÃO

O termo *chemoinformatics* foi introduzido pela primeira vez na literatura em 1998 (BROWN), sendo definida como “mistura de recursos de informação para transformar dados em informação e informação em conhecimento, no intuito de tomar decisões melhores e mais rápidas na área de identificação e otimização de compostos líderes”, apresentando como foco, a pesquisa acerca das descobertas de fármacos, sendo esta, a característica predominante desde então nesta área, considerada uma ciência interdisciplinar, que se utiliza de recursos computacionais para resolver problemas químicos (GASTEIGER; ENGEL, 2003).

Logo, relaciona-se com áreas e subáreas da química (WILD, 2013) como a química computacional (que se utiliza da química teórica para se calcular propriedades de moléculas), a modelagem molecular (HINCHLIFFE, 2003), técnicas de otimização de compostos (contribuindo na compreensão da interação de moléculas com proteínas), bem como o planejamento de fármacos auxiliado por computador (YOUNG, 2009), de forma a auxiliar na descoberta e planejamento de novas moléculas bioativas.

Atualmente, a quimioinformática encontrou aplicações mais amplamente aceitas no campo do design de drogas (GASTEIGER, 2016), este possuindo como principais objetivos a identificação de subsistemas dentro de um grupo de compostos químicos, sendo obtidos utilizando *Virtual Screening* (V.S.) (ESTRADA, 1996) de grandes bancos de dados ou bibliotecas de compostos candidatos à fármacos. Esta representa um grande avanço para o planejamento dos fármacos, pois realiza seleção de compostos orgânicos, a partir de bancos de moléculas, com potencial atividade (IRWIN; SHOICHET, 2005).

As inovações tecnológicas induzem uma maior aproximação entre a química e a biologia molecular, em especial no planejamento de novos fármacos (CADD – *Computer-Aided Drug Design*). A exemplo do *docking* (docagem), que atua de forma a direcionar a obtenção de novos derivados sintéticos, que sejam mais seguros, eficazes, menos tóxicos e que possam ser utilizados como alternativas terapêuticas para o tratamento dessas infecções. Muitas enfermidades possuem alvos bem estudados, de forma a possuir agentes terapêuticos que facilitem o planejamento de novos compostos atualmente, apesar de que muitos males ainda carecem de estratégias específicas e alvos biológicos (JORGENSEN, 2009).

A utilização dessas ferramentas, tornou possível a realização da síntese de fármacos estruturalmente modificados de forma a apresentar características farmacocinéticas e farmacodinâmicas melhoradas e, conseqüentemente a toxicidade e atividade aprimoradas (MIKOVSKI et al., 2018) Muitos pesquisadores utilizam técnicas computacionais como forma de

auxiliar na descoberta de novos agentes para enfermidades emergentes, a exemplo da leishmaniose (FÉLIX et al., 2016; TAHGHIGHI et al., 2016; RODRIGUES et al., 2015; 2018; SERAFIM et al., 2018; PEREIRA, 2019), que se define como um conjunto de doenças causadas pelo protozoário *Leishmania* (ordem: Kinetoplastida / família: Trypanosomatidae) (BALAÑA-FOURCE et al, 1998), causando grandes manifestações clínicas, como lesões cutâneas nodulares e ulcerativas (cutâneas), mucocutânea e a forma visceral, considerada a mais grave por ser potencialmente fatal (FERREIRA, 2018).

Nesse sentido, visto a ausência de vacinas e a limitação no número de medicamentos disponíveis para o tratamento e controle da leishmaniose, sendo a restrição associada a fatores como, alta toxicidade, eficácia variável, regimes de dosagem longa e/ou administração parenteral, justifica-se a importância da busca por novas alternativas terapêuticas que: sejam eficazes contra as duas formas parasitárias (promastigota e amastigota); que eliminem os reservatórios (diminuindo a carga parasitária do linfonodo e baço); que possam ser administradas preferencialmente por via oral; que sejam eficazes em tratamentos mais curtos; que sejam efetivos também frente a cepas resistentes (ZULFIQAR et al., 2017), (GUTIÉRREZ-REBOLLEDO et al., 2015).

A síntese de novos compostos orgânicos tem papel importante no desenvolvimento de novos fármacos (SANGI, 2016) e o processo de descoberta e desenvolvimento, gera custos que podem variar de US\$ 500 milhões a US\$ 1 bilhão, e tempo de dez a quinze anos. Ampliar o arsenal de medicamentos para as doenças negligenciadas deve ser uma prioridade para os governos de nações que sofrem com tais enfermidades, exigindo então mais pesquisas e melhores políticas de apoio neste sentido, de forma a facilitar o desenvolvimento dos agentes terapêuticos desejados (MICHELETTI; BEATRIZ, 2012).

Compostos orgânicos contendo anéis heterocíclicos aromáticos, tais como o anel tiofeno, encontram-se amplamente distribuídos na natureza e são compostos de síntese simples e de baixo custo, tornando-os importantes fragmentos estruturais na química medicinal, servindo como base para o planejamento e implementação de novos agentes terapêuticos, em especial, como anti-*Leishmania* (FÉLIX et al., 2016; RODRIGUES et al., 2015, 2018; JACOMINI et al., 2016; SAINI et al., 2013, SERAFIM et al., 2018).

Estudos no nosso grupo de pesquisa (Laboratório de Quimioinformática da UFPB, em parceria com os laboratórios de Síntese e Vetorização de Moléculas da UEPB e Laboratório de Leishmaniose da UFPB) identificaram promissora atividade anti-*Leishmania in vitro* de derivados 2-amino-tiofenos, sem se mostrarem tóxicos frente a células de mamíferos, onde os que apresentavam um anel indólico terminal se mostraram mais efetivos, demonstrando assim potencialidade na terapêutica das leishmanioses (RODRIGUES et al., 2015, 2018). Diante desses dados, o estudo de

Félix et al. (2016), analisou 32 novos derivados tiofênicos indólicos quanto ao seu potencial anti-*Leishmania* sobre formas promastigotas de *L. amazonensis*. Constatando-se a atividade *in vitro*, estes compostos serviram de base para esta pesquisa por meio da análise computacional e planejamento de novos derivados tiofeno indol, de forma a investigar o potencial leishmanicida de tais compostos híbridos.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Realizar estudos de planejamento de fármacos *in silico*, com auxílio de ferramentas computacionais para triagem virtual, bem como a síntese e avaliação biológica de novos derivados 2-amino-tiofênicos planejados, contendo uma porção indólica como agentes anti-*Leishmania*.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar a construção de modelos com descritores holísticos gerados pelo *DRAGON 7.0*, que representam as principais propriedades físico-químicas dos compostos, como reflexos de suas estruturas moleculares;
- Construir e analisar estatisticamente a qualidade dos modelos com auxílio do software *MobyDigs 1.1*;
- Realizar estudos de docking para a seleção de compostos baseados na estrutura do receptor utilizando o *software MOLEGRO VIRTUAL DOCKER 6.0*;
- Propor novas estruturas de moléculas com base no esqueleto do composto 2-aminotiofeno indólico padrão, utilizando o *MarvinSketch 17.15*;
- Obter banco de dados de plataformas virtuais (PubChem e ChemBl);
- Construir modelos de predição para as espécies *Leishmania infantum*, *Leishmania donovani*, *Leishmania braziliensis*, utilizando a plataforma Chembench;
- Selecionar seis moléculas para realização de síntese;
- Sintetizar e caracterizar novos derivados 2-aminotiofenos contendo a porção indólica;

- Analisar a estrutura cristalina do composto mais ativo por difração de raios X;
- Realizar estudos *in vitro* com as moléculas sintetizadas utilizando formas amastigotas e promastigotas da espécie *Leishmania amazonensis*;
- Analisar a citotoxicidade *in vitro* em macrófagos.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 PLANEJAMENTO DE FÁRMACOS

É de extrema importância a descoberta de fármacos mais eficazes e seguros, que causem menores efeitos colaterais, e que tenham ação multi-alvo (multitarget), de modo que na interação com diferentes alvos, as doenças complexas de origem multifatorial sejam tratadas com maior eficácia e em menos tempo, necessitando-se de doses menores (MORPHY; RANKOVIC, 2005); minimizando riscos de efeitos colaterais ou interações entre fármacos; podendo proporcionar aos seus usuários menor rejeição e maior sucesso nos tratamentos. Logo a química medicinal, por meio do planejamento de fármacos, passou a contribuir com a maior parte das novas descobertas de medicamentos sintéticos, os quais são aplicados no combate a diversas enfermidades (PETERS, 2013).

Grande parte dos fármacos de uso clínico é de origem natural, biotecnológica ou obtidos através de processos sintéticos, que permitem não apenas a obtenção de novas entidades químicas, como permite promover modificações estruturais em protótipos, visando a obtenção de uma nova molécula menos tóxica e/ou com maior atividade biológica (BARREIRO; BOLZANI, 2009).

Frequentemente, a realização da triagem fenotípica para a identificação de protótipos bioativos, acontece apenas por meio de ensaios *in vitro* e *in vivo* em modelos animais (CONSTANTINO; BARLOCCO, 2013). Contudo, esses últimos, possuem a desvantagem de estarem associados ao uso experimental de um grande número de animais, bem como a incapacidade muitas vezes de determinar se um composto é inativo por sua inabilidade em interagir efetivamente com o alvo terapêutico, ou por ineficiência de alcançar o alvo no meio biológico resultado das limitações farmacocinéticas (MORPHY; RANKOVIC, 2008).

O planejamento estrutural de fármacos *multitargets*, pode ser realizado através da montagem de farmacóforos híbridos a partir de novas ferramentas de modelagem molecular e química computacional. Utiliza-se compostos matrizes que possuem estruturas químicas e atividades

biológicas bem conhecidas, mantendo seus grupos farmacofóricos, para se obter compostos análogos ou homólogos sem que haja perda das propriedades, ou seja, a depender se há o conhecimento prévio da forma estrutural do alvo terapêutico, pode-se então definir a estratégia de planejamento estrutural a ser adotada para o desenho molecular do ligante. (MONTANARI, 1995; VIEGAS-JUNIOR et al., 2007; BARREIRO; BOLZANI, 2009).

Logo, com a estrutura tridimensional do alvo conhecida, pode-se realizar o planejamento molecular do ligante seletivo por meio da química computacional, que seguirá as etapas de síntese e avaliações biológicas (MIKOVSKI et al., 2018). Entretanto, quando não se tem conhecimento sobre a estrutura do alvo desejado, utilizam-se estratégias de planejamento partindo de uma estrutura química do substrato natural, inspirando assim, novos análogos ativos. Dentre as estratégias, está a hibridação molecular, que é definida como uma metodologia para propor um novo fármaco partindo de substâncias bioativas já conhecidas, tomando como base a combinação dos seus grupos farmacofóricos (COSTANTINO; BARLOCCO, 2013).

3.2 ESTUDOS *IN SILICO*

A química, bem como a ciência de forma geral, obteve a maior parte do conhecimento provindo de dados, por meio das observações. Com o passar dos anos, a química teórica aprimorou-se de forma que poderia fazer previsões para satisfazer requisitos químicos. Alguns softwares desenvolvidos podem processar grandes quantidades de dados, de forma rápida, mais do que um pesquisador humano poderia fazer. Contudo, devido ao fato de alguns processos químicos serem complexos, é indispensável a utilização de dados experimentais agregados com o uso da tecnologia informática (GASTEIGER, 2016).

Ferramentas variadas são constantemente desenvolvidas e aperfeiçoadas de forma a aprimorar as pesquisas, o que facilita o acesso as informações biológicas. Evidências importantes podem ser fornecidas através dos estudos computacionais, encaminhando assim, os testes *in vitro* e facilitando a identificação de mecanismos abordados com análises computacionais mais direcionadas (BÔAS, 2018).

Avanços na ciência, como a conclusão do genoma humano que possibilitou a descoberta de novos medicamentos, além das técnicas que facilitaram a descoberta de muitos detalhes estruturais de proteínas e dos complexos com seus ligantes, permitiram a incorporação de estratégias computacionais que permeiam os aspectos das descobertas de drogas atualmente. Nesse sentido, uma molécula deve se ligar a uma ou mais proteínas-alvo envolvidas na expressão de uma doença. Logo,

a ligação às proteínas que possuem um impacto negativo sobre eficácia, ou causam efeitos colaterais indesejados, devem ser evitadas. Ao partir desse princípio, o planejamento de medicamentos tem como objetivo projetar moléculas com um perfil de interação conhecido contra uma multiplicidade de diferentes proteínas-alvo (SCHMIDT et al., 2013).

Ligantes *multitarget*, afetam diversos alvos simultaneamente, logo possuem efeito multifuncional (ZHANG et al., 2018). Quando é possível atingir vários alvos, acredita-se que o tratamento da doença seja mais produtivo (BOLOGNESI, 2011), diminuindo probabilidade de resistência (CHAUDHARI et al., 2017). Ao contrário das terapias de *cocktail* ou combinações de drogas, uma droga *multitarget* que interage com alta eficácia poderia alterar a condição do paciente de um desequilibrado estado de doença para um estado normal saudável.

Dentre as estratégias, pode-se citar o V.S., o qual concede métodos de otimização (GOHLKE; KLEBE, 2002) utilizando ferramentas computacionais de forma rápida e econômica, para auxiliar na identificação de moléculas de um banco de dados como potenciais agentes contra alguma enfermidade (LIONTA et al., 2014). Quando um conjunto de moléculas ligantes é conhecida e se tem pouca ou nenhuma informação sobre os alvos, as técnicas se baseiam na estrutura do ligante como a modelagem do grupo farmacofórico e a Relação Quantitativa de Estrutura-Atividade (QSAR), as quais podem ser utilizadas (MENG et al., 2011). Logo, o V.S. possibilita a descoberta de funções polifarmacológicas de alguns ligantes, contribuindo para a descoberta de *multitargets* (CHAUDHARI et al., 2017).

Quando se utiliza a metodologia baseada na estrutura, faz-se necessário um conhecimento prévio da estrutura tridimensional do alvo estudado, no entanto, quando se utiliza abordagens baseadas no ligante, sugere-se obter alguma informação de um ligante conhecido e sua atividade biológica. Também é utilizado banco de dados de compostos com atividades biológicas, para assim, obter-se a construção de modelos matemáticos a partir de descritores moleculares obtidos dos ligantes (SVENSSON et al., 2012).

A modelagem molecular é outra ferramenta importante, a qual consiste na representação e manipulação de estruturas moleculares tridimensionais (3D), e do cálculo de propriedades moleculares dependentes daquelas estruturas em um curto espaço de tempo (MELO, 2019). Nesse sentido, a modelagem molecular consiste na representação de um conjunto de técnicas computacionais baseada na mecânica clássica (DORI; BARAK, 2001), de forma a encontrar potenciais de energia de interações entre duas moléculas ou o tempo desta interação (MELO, 2019). A análise da estrutura molecular de um determinado grupo de moléculas permite que informações relevantes sejam extraídas, permitindo predizer a potencialidade de moléculas candidatas se tornarem compostos bioativos (LEACH, 2001).

Dentre as técnicas de modelagem, é possível exemplificar o *docking* molecular, que é um dos métodos de planejamento baseado na estrutura do receptor. Tem como meta realizar a predição de possíveis modos de ligação dos compostos em um sítio de ligação do alvo biológico, levando como parâmetro o cálculo de afinidade de ligação baseado na conformação e características de complementaridade do receptor-ligante (MACALINO et al., 2015). O uso da modelagem molecular apesar de não permitir alcançar o modelo de uma molécula bioativa, pode se aproximar de algo observado na natureza. Essas predições não substituem os testes experimentais, inclusive, assim que possível, vale uma comparação com os resultados alcançados experimentalmente (BAIG et al., 2016).

Diversos estudos teóricos empregando metodologias do CADD têm auxiliado de forma relevante o processo de descoberta de novos fármacos, principalmente, depois dos grandes avanços tecnológicos nas áreas de caracterização estrutural de biomacromoléculas, de ciência computacional e da biologia molecular que tem permitido que essas ferramentas tornem-se mais rápidas e factíveis (SCOTTI et al., 2012a, SCOTTI et al., 2012b). Essas metodologias são descritas em diversas páginas da internet e auxilia, com tutoriais, a investigação das interações químicas de um ligante com o seu receptor e exploração dos fatores estruturais relacionados ao efeito biológico. Como consequência, a elucidação dos mecanismos envolvidos nas ações moleculares dos fármacos pode ser compreendida pela integração de conhecimentos fundamentais de Química Orgânica, Bioquímica, Biologia Molecular e Farmacologia (CARVALHO et al., 2003, SLIWOSKI et al., 2014).

3.3 LEISHMANIOSE

A leishmaniose é definida como um conjunto de doenças causadas pelo protozoário do gênero *Leishmania* (ordem: Kinetoplastida / família: Trypanosomatidae) (BALAÑA-FOURCE et al., 1998; ALEXANDER; RUSSEL, 1985). Possuem 2 tipos de hospedeiros: fêmeas dos insetos transmissor, denominados flebotomíneos (*Phlebotomus* sp. e *Lutzomyia* sp.), sendo encontrado na forma flagelada, denominada promastigotas (fase extracelular) e sob a forma amastigota (forma intracelular) e no hospedeiro humano (BRASIL, 2013; WHO, 2017).

Essa enfermidade é atualmente considerada umas das seis endemias prioritárias, segundo World Health Organization (WHO) e pode se apresentar sob duas formas gerais de classificação, a tegumentar ou a visceral (considerada a mais grave de todas, podendo ser fatal quando não tratada). Dados do Ministério da Saúde (BRASIL, 2019), relatam 2.529 casos no Brasil no ano de 2019, sendo a região nordeste a mais atingida, chegando a até 1.249 casos no mesmo ano. A forma tegumentar pode ser classificada em quatro subtipos a serem diferenciados por meio dos quadros clínicos, nesse sentido, as genericamente denominadas Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA), podem ser:

cutânea simples, cutânea difusa, disseminada, mucocutânea (BAÑULS et al., 2011; ALVAR et al., 2012; BELO et al., 2014). Diferentes espécies de *Leishmania* e condições imunológicas do hospedeiro mamífero, bem como as diversas condições ambientais, resultam nestas distintas manifestações clínicas (WHO, 2017).

Para a prevenção e o controle das leishmanioses, algumas medidas devem ser tomadas associadas ao diagnóstico precoce e ao tratamento adequado, como a redução do contato homem-vetor (proteção individual), controle de reservatórios e aplicação de inseticida (ALVAR et al., 2012; BRASIL, 2014).

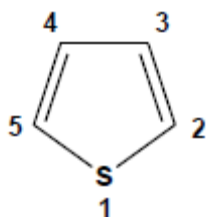
Atualmente, o tratamento para esta enfermidade é restrito a um grupo pequeno de fármacos utilizados na quimioterapia. Contudo, estes possuem algumas limitações como: alto custo e toxicidade, difícil via de administração e fraca eficácia em áreas endêmicas devido à crescente seleção de resistência. Além disso, para alguns dos fármacos utilizados, o mecanismo de ação é desconhecido (BRASIL, 2014; FERNANDES, 2014).

Entre os medicamentos mais utilizados e recomendados estão os antimoniais pentavalentes, estes apresentam uma rápida eliminação renal e limitada acumulação desses compostos nos tecidos, porém causam sérios efeitos colaterais (BALANA-FOURCE et al., 1998). Outras drogas alternativas como a pentamidina e anfotericina B também são de uso parenteral (MACHADO MAIL et al., 2010).

Diante disto, faz-se necessária maior investimento na identificação de novas moléculas alvo em *Leishmania* para melhor compreender sua interação com os hospedeiros e investigar a possibilidade do emprego destas moléculas como alvos para o desenvolvimento racional de fármacos, no entanto, o que vemos é um número limitado de opções, e falta de inovação nos programas de desenvolvimento de novos fármacos na área de doenças negligenciadas (VERA-IZAGUIRRE et al., 2006; REITHINGER et al., 2007).

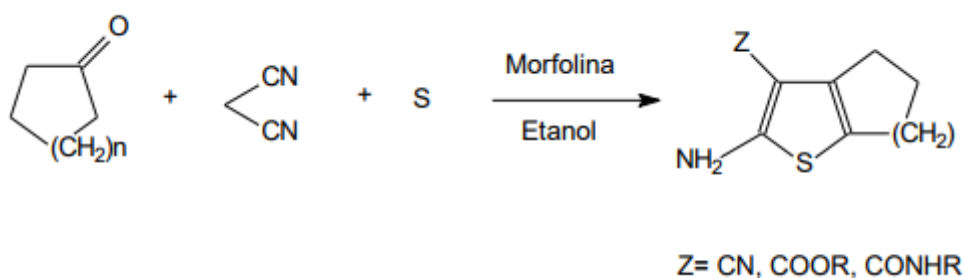
3.4 DERIVADOS TIOFENOS INDÓLICOS E SEU POTENCIAL FARMACOLÓGICO

Os compostos heterocíclicos ocupam uma posição central na química orgânica sintética, com grande importância teórica e prática (JOULE; MILLS, 2010). Os tiofenos são pertencentes ao grupo dos heterocíclicos aromáticos, consistem em um anel heterocíclico aromático pentagonal, de modo que um carbono metilênico foi substituído por um átomo de enxofre (**Figura 1**) (ZHONGHAI, 2005). Existem relatos da década de 1880 atribuídos a Victor Meyer sobre a descoberta e estudo de caracterização de propriedades físico-químicas dos tiofenos (THORPE, 1900; HELLIWELL et al., 2011), além disso, são consideradas estruturas importantes no design de fármacos (KERI et al., 2017).

Figura 1 - Estrutura do tiofeno

Fonte: Félix, 2016.
Auxílio do programa ChemDraw Ultra 7.0.

Moléculas contendo o heterociclo tiofeno existem como produtos naturais (RUSSEL, 1996) e quimioterápicos sintéticos (PRESS, 1985). Dentre os heterociclos tiofênicos, destacam-se os compostos 2-aminotiofenos, já bastante relatados nos estudos de investigação de novos fármacos (PUTEROVÁ, 2009). Karl Gewald, químico alemão, em 1961, revolucionou a síntese de tiofenos ao inovar com a síntese multicomponente, que fornece os 2-aminotiofenos (GEWALD, 1965; GEWALD et al., 1966; HUANG; DOMLING, 2011). São uma boa opção para mais estudos devido a sua estabilidade e simplicidade da síntese, o que permite a construção de novos produtos terapêuticos (AGUIAR et al., 2016). Sua rota sintética consiste na condensação multicomponente entre uma cetona ou aldeído, com um composto metileno ativo em meio básico e enxofre elementar (**Esquema 1**).

Esquema 1 - Síntese de derivados 2-aminotiofênicos através da reação de Gewald

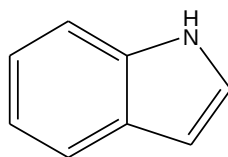
Elaboração própria, 2020.

Muitos estudos estão sendo realizados com tiofenos 2-amino substituídos devido a sua utilidade como precursores de moléculas com propriedades farmacológicas, justificando então a grande quantidade de interesse de pesquisa. Há relatos na literatura de diversas atividades biológicas inerentes aos derivados tiofênicos, a exemplo: analgésico (BASOGLU et al., 2017; FAKHR et al., 2009), antituberculose (THANNA et al., 2016), anti-inflamatórios (MOHAREB et al., 2015),

antibacteriano (KHALIL et al., 2009; ZHANG et al., 2014) e anti-ansiedade (AMR et al., 2010), anti-*Leishmania* (RODRIGUES et al., 2015; 2018; FÉLIX et al., 2016; RODRIGUEZ et al., 2018), antifúngica (ELEAMEN et al., 2017), anti-HIV (MONTEIRO, 2020), anticancerígeno (WARDAKHAN et al., 2018). Além das atividades já citadas anteriormente, há estudos que relatam que os tiofenos e seus sistemas de anéis fundidos possuem um amplo espectro de atividades biológicas, como antagonistas dos antiarrítmicos e serotonina (AMR et al., 2010; FABRITIUS et al., 2016).

Os 2-amino-tiofenos podem estar condensados ao grupo indol, (**Figura 2**) (2,3-benzopirrol) (C_8H_7N), este é uma subunidade aromática rica em elétrons. É amplamente distribuída nos sistemas biológicos como um constituinte importante de biomoléculas, tais como o triptofano, aminoácido essencial na nutrição humana como componente estrutural de muitas proteína e precursor biossintético do neurotransmissor serotonina (ALVES et al., 2009). Logo, representa uma das subunidades estruturais mais importantes para a descoberta de novos candidatos a fármacos (JOULE et al., 1998; SMITH et al., 1998; KALARIA et al., 2018).

Figura 2 - Grupamento Indol



Fonte: Félix, 2016.
Auxílio do programa ChemDraw Ultra 7.0.

Da Settimo (1996) enfatizou a importância da presença do grupo NH no indol nas interações com os receptores após a substituição isostérica do núcleo indol em uma série de derivados glioxililamina, caracterizados como supostos ligantes do receptor da benzodiazepina, do benzotiofeno e benzofurano.

Gupta et al. (2010) apresentaram em seus estudos a atividade anti-*Leishmania* de derivados indólicos utilizando uma série de [1,2,4]triazina[5,6-*b*]indol-3-iltio-1,3,5-triazinas, para a espécie *Leishmania donovani*. Porwal et al., (2017), também mostrou resultados significativos contra esta mesma espécie, utilizando derivados indólicos gem-Ditioacetilados.

Ashok et al. (2017) investigaram a ação de quinze derivados 1-(tiofen-2-il)-9*H*-pirido[3,4-*b*]indol frente a formas promastigotas e amastigotas das espécies *Leishmania donovani* e *Leishmania amazonensis*. Nesse sentido, destaca-se o resultado satisfatório de alguns compostos com CI_{50} (Concentração mínima inibitória de 50%) chegando até a 4.85 μM (promastigotas) e 7.50 μM (amastigotas).

Da Silva et al. (2020) demonstraram a eficácia de derivados indol-3-yl-tiosemicarbazonas frente às espécies *Leishmania infantum* (CI₅₀ 4.36 e 23.35 µM) e *Leishmania amazonensis* (CI₅₀ 12.31 e > 481.52 µM), com baixa citotoxicidade frente a macrófagos. Somado a estes relatos promissores, enfatiza-se a simples síntese desses compostos, portanto, sugere-se que eles podem ser potenciais candidatos para o desenvolvimento de novas drogas leishmanicidas, abrindo assim, um novo caminho para uma maior exploração.

Estudos do grupo de pesquisa (Laboratório de Quimioinformática da UFPB, em parceria com o laboratório de Síntese e Vetorização de Moléculas da UEPB e Laboratório de Leishmaniose da UFPB) identificaram promissora atividade anti-*Leishmania in vitro* de derivados 2-amino-tiofenos, demonstrando uma potencialidade na terapêutica das leishmanioses. Os compostos selecionados no referido estudo, demonstraram atividade contra formas promastigotas de *L. amazonensis* com valores de CI₅₀ chegando próximo a 3,37 µM (sem apresentar citotoxicidade para células sanguíneas e macrófagos). Os parasitas morrem por apoptose envolvendo externalização de fosfatidilserina e fragmentação do DNA acompanhada pela morte celular por necrose secundária. Os compostos foram eficazes contra a infecção de macrófagos, além disso, a atividade anti-amastigota desses derivados também estava associada com a modulação da resposta imune do hospedeiro (RODRIGUES et al., 2015; 2018).

Adicionalmente, notou-se que os compostos mais efetivos apresentavam um anel indólico terminal, que pode estar envolvido no desenvolvimento da atividade anti-*Leishmania*. Diante desses dados, foi realizado um outro estudo para investigar a atividade de novos derivados tiofênicos indólicos com o intuito de encontrar moléculas com potencialidade na terapêutica das leishmanioses.

Dando continuidade à pesquisa, foram sintetizados 31 novos derivados tiofênicos-indólicos híbridos, que foram avaliados quanto seu potencial anti-leishmania, sobre formas promastigotas de *L. amazonensis*, da mesma forma como foram conduzidos os testes anteriores. E observamos que todos os derivados 2-amino-tiofênicos apresentaram importante atividade *in vitro* sobre o parasito, com valores de CI₅₀ frente as formas promastigotas, chegando até 5,78 µm para o composto mais ativo. Sendo os compostos híbridos equipotentes as drogas referência Glucantime, Anfotericina B e Sb^{III} (FÉLIX et al., 2016).

Nesse contexto, considerando os excelentes resultados obtidos até o momento com esses derivados híbridos 2-aminotiofeno-indol, decidimos neste estudo, realizar com auxilio de ferramentas de quimioinformática, a triagem virtual e a predição da atividade de novos derivados 2-amino-tiofênicos a serem obtidos por via sintética como potenciais agentes anti-*Leishmania*.

4 METODOLOGIA

4.1 MOLÉCULAS

Para o desenho das estruturas foi utilizado o software MarvinSketch 17.15 e para todas as estruturas foram utilizados códigos SMILES, que serviram como dados de entrada para o *software Standardizer* [JChem 14.9.1.0, 2014, ChemAxon (<http://www.chemaxon.com>)], utilizado para padronizar as diversas estruturas químicas convertidas em representações canônicas personalizadas.

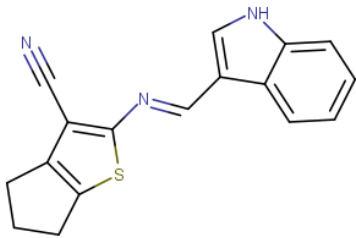
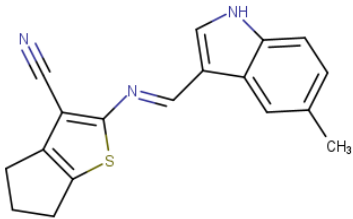
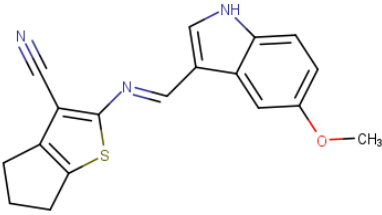
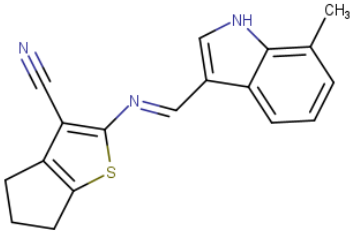
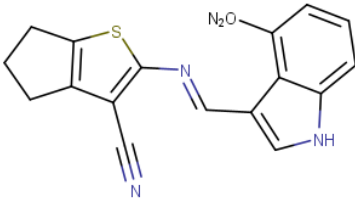
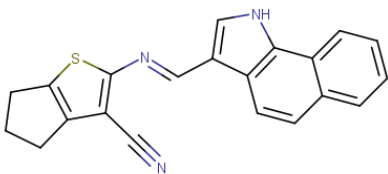
4.2 DESCRITORES MOLECULARES

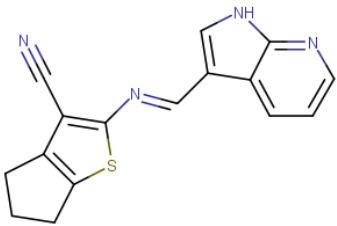
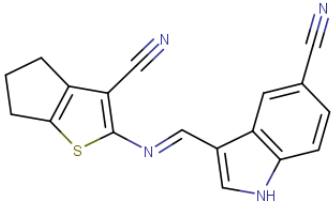
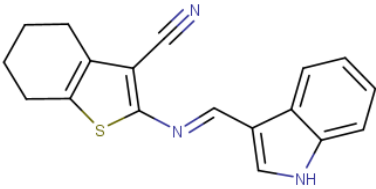
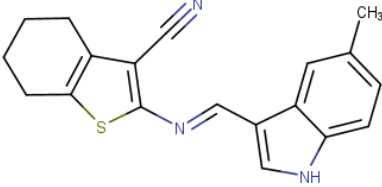
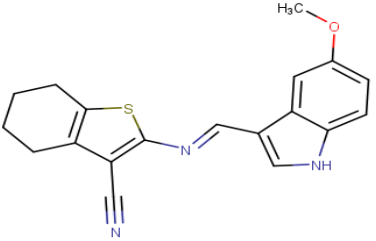
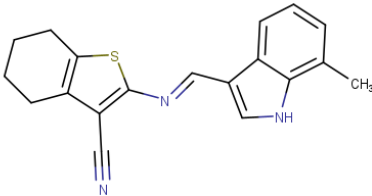
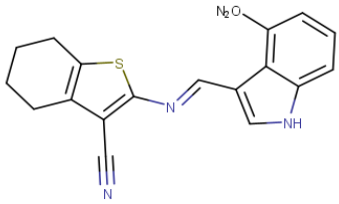
Dados de atividade biológica obtidos por estudos anteriores do grupo de pesquisa (FÉLIX et al., 2016), utilizando 32 derivados 2-aminotiofenos indólicos, foram requeridos para a construção de modelos com descritores moleculares gerados com o auxílio do programa DRAGON 7.0 (KODE srl, 2016). Através dele, é possível obter os parâmetros de maneira relativamente rápida. Em torno de 5 minutos pode-se obter 4885 descritores moleculares abrangendo várias abordagens teóricas. Estes descritores estão distribuídos em 30 blocos lógicos.

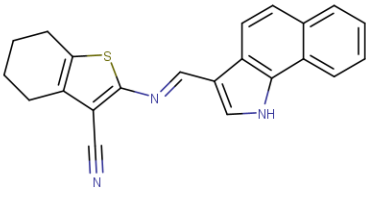
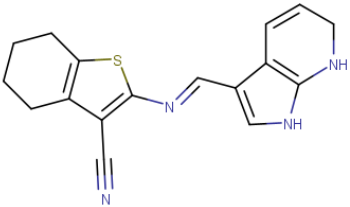
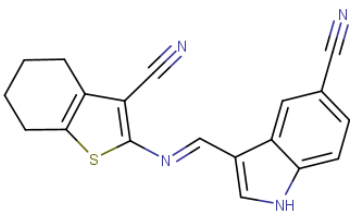
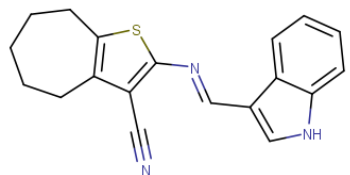
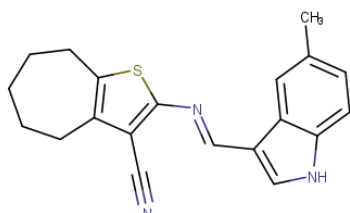
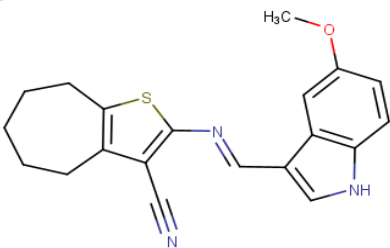
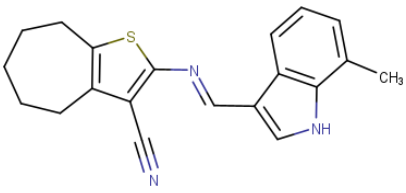
Um descritor molecular pode ser considerado como sendo o resultado obtido de procedimento lógico e matemático, aplicado às informações químicas codificadas através da representação de uma molécula (CONSONNI et al., 2002), ou seja, ocorre a transformação destas informações em um valor numérico associado a uma determinada propriedade molecular importante para posterior análise, como por exemplo, ponto de fusão ou a uma atividade biológica (KUBINYI, 1993a;1993b).

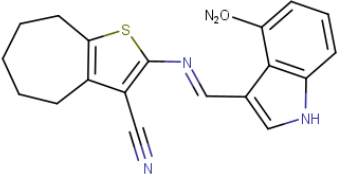
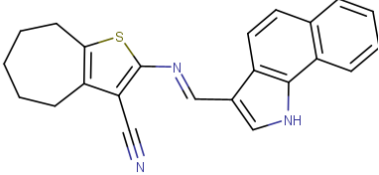
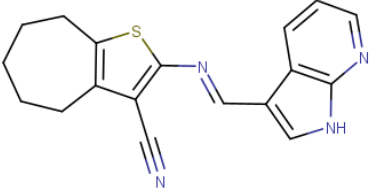
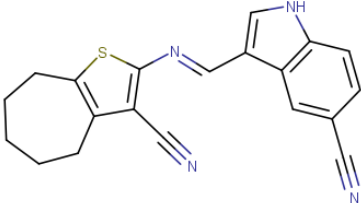
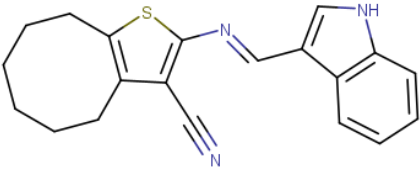
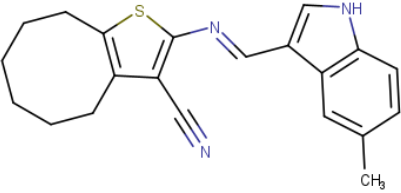
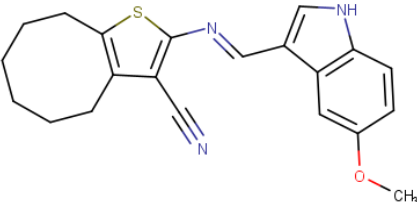
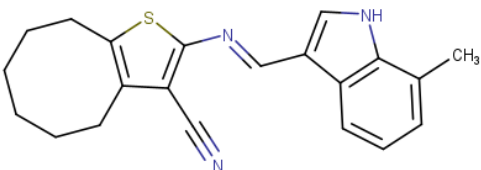
Estes 32 novos 2-aminotiofenos indólicos já descritos (**Tabela 1**), serviram de base para o planejamento e construção de 92 (noventa e duas) novas moléculas (derivados 2-aminotiofenos indólicos) (**ANEXO I**) que foram analisadas pelo modelo construído para a obtenção dos pIC₅₀ preditos.

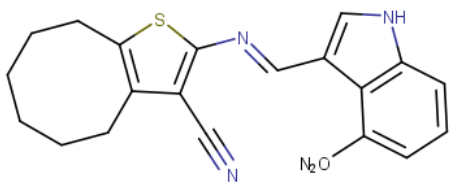
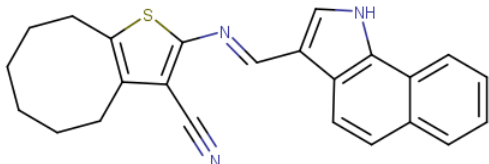
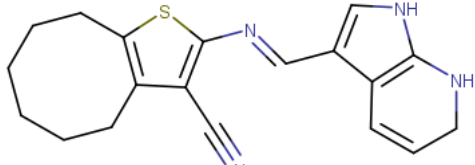
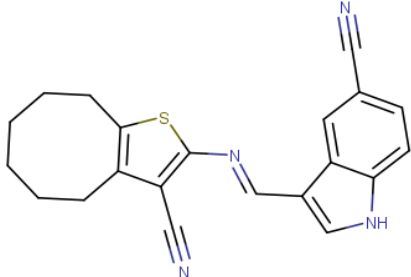
Tabela 1 – Estruturas químicas, e valores de atividade leishmanicida dos 2-aminotiofenos indólicos descritos em FÉLIX et al., 2016.

ID	Estrutura	MM	IC ₅₀ (M)	pIC ₅₀
TN5		290	0.000169	4.63
TN5-1		305	2.32E-05	3.41
TN5-2		321	0.000388	3.52
TN5-3		305	0.000300	3.29
TN5-4		336	0.000510	4.64
TN5-5		341	2.31E-05	3.00

TN5-6		292	0.000990	4.63
TN5-7		316	2.36E-05	4.63
TN6		304	1.48E-05	4.83
TN6-1		319	7.27E-06	5.14
TN6-2		335	1.79E-05	4.75
TN6-3		319	1.01E-03	3.00
TN6-4		350	8.54E-04	3.07

TN6-5		355	8.37E-05	4.08
TN6-6		306	7.45E-04	3.13
TN6-7		330	1.43E-05	4.84
TN7		319	1.01E-05	5.00
TN7-1		333	1.83E-05	4.74
TN7-2		349	2.93E-05	4.53
TN7-3		333	2.36E-03	2.63

TN7-4		364	2.93E-03	2.53
TN7-5		369	5.07E-05	4.30
TN7-6		320	2.73E-05	4.56
TN7-7		344	1.01E-05	5.00
TN8		332	1.64E-05	4.78
TN8-1		347	1.88E-05	4.73
TN8-2		363	1.76E-05	4.76
TN8-3		347	1.19E-05	4.92

TN8-4		378	2.49E-05	4.60
TN8-5		383	2.45E-05	4.61
TN8-6		334	1.95E-03	2.71
TN8-7		358	5.78E-06	5.24

*ID: Identificação, MM: Massa Molar, IC₅₀: Concentração inibitória de 50%, pIC₅₀: (-log IC₅₀ (mol/l)).
 Fonte: Félix et al., (2016).

4.3 CONSTRUÇÃO DO MODELO DE PREDIÇÃO

Os descritores obtidos pelo DRAGON 7.0 (KODE srl, 2016) foram analisados estatisticamente pelo MobyDigs v. 1.1, que investiga a qualidade dos modelos através de algoritmo genético GA-VSS (MOBYDIGS: TODESCHINI et al., 2004). O algoritmo genético GA-VSS, permite que pares de modelos sejam selecionados gerando um novo modelo (modelo filho) que mantém as características dos modelos pais, de forma que as variáveis significativas do sistema investigado permaneçam nos modelos gerados e as de menor importância sejam excluídas.

Para os compostos relatados por Félix et al. (2016), foram obtidos modelos com até 5 descritores, de modo que foi realizada uma análise múltipla possibilitando uma maior confiabilidade nos dados devido a maior robustez.

Já com relação aos novos compostos planejados virtualmente, houve a análise utilizando os modelos construídos selecionados por meio do Q^2 externo. Dez modelos foram selecionados e foram calculadas as médias de pIC_{50} utilizando o EXCEL (Microsoft Office Professional Plus 2013) e, a partir destas, foram ranqueados e selecionados os 30 melhores compostos. De forma simultânea a qualidade dos modelos obtidos na análise de regressão, foi avaliada pela obtenção dos valores de R^2 , sendo esta uma medida do total variância da resposta explicada pelos modelos de regressão, além disso, os modelos foram validados internamente pelo procedimento de exclusão (Q^2 LOO) e a robustez dos modelos foi avaliada posteriormente pelo bootstrap (Q^2 BOOT). Vale ressaltar que o GA foi interrompido quando o aumento das gerações não provocou aumento significativo no Q^2 .

4.4 DOCKING MOLECULAR

Validar e identificar um alvo molecular é uma etapa essencial para a investigação visando o desenvolvimento de fármacos que possam atuar frente à diversas enfermidades, em razão da importância no processo fisiopatológico estudado, bem como caracterização do impacto da ação seletiva no tratamento de doenças (RODRIGUES, 2019).

As proteínas alvo de *Leishmania mexicana*, arginase (PDB ID: 4IU0, 4IU1, 4IU4, 5HJ9, 5HJA), glicerol-3-fosfato desidrogenase (PDB ID: 1JDJ, 1M66, 1M67), piruvato quinase (PDB ID: 3QV6, 3QV7, 3QV8), com seus respectivos ligantes inibidores foram extraídos do Protein Data Bank (PDB) (<http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>), detalhes de cada enzima podem ser visualizados na **Tabela 2**. Vale ressaltar que devido à ausência de proteínas cristalizadas de *Leishmania amazonensis* no PDB, escolheu-se a *L. mexicana* por possuir uma grande similaridade (REAL et al., 2013).

Tabela 2 - Proteínas alvo para *Leishmania mexicana*

PDB ID	Nome	Classificação	Ligantes Inibidores
4IU0	Arginase	Hidrolase	Ácido 2(S)-amino-6-borono-hexanóico
4IU1	Arginase	Hidrolase	NOR-N-omega-hidroxi-l-arginine
4IU4	Arginase	Hidrolase	Beta-mercaptoetanol
5HJ9	Arginase	Hidrolase	[(5R)-5-amino-5-carboxi-7-(piperidin-1-il)heptil](triidroxi)borate(1-)
5HJA	Arginase	Hidrolase	Ácido (R)-2-amino-6-borono-2-(1-(3,4-diclorobenzil)piperidin-4-il)hexanóico

1JDJ	Glicerol-3-fosfato desidrogenase	Oxidoreductase	6-cloro-2-fluorpurina
1M66	Glicerol-3-fosfato desidrogenase	Oxidoreductase	2-bromo-6-cloro-purina
1M67	Glicerol-3-fosfato desidrogenase	Oxidoreductase	2-bromo-6-hidroxi-purina
3QV7	Piruvato quinase	Transferase	Ácido 9,10-dioxo-4-(feenilamino)-9,10-dihidroantraceno- 2-sulfonico
3QV8	Piruvato quinase	Transferase	Ácido 1,3-benzotiazole-2,5-disulfônico

Fonte: Félix et al., (2020).

A arginase é uma enzima que precede ornitina descarboxilase na via biossintética da poliamina, de forma a catalisar a hidrólise da L-arginina para a produção de L-ornitina e ureia (ASH et al., 1999; CHRISTIANSON, 2005) e, assim, regula o fluxo de L-ornitina para a biossíntese de poliaminas. Com a diminuição da concentração de L-arginina nos sítios de infecção, a arginase assume o papel de supressão da resposta imune, reduzindo a produção do óxido nítrico derivado de L-arginina. Tendo em vista que a arginase apresenta um papel crítico não só na biossíntese de poliaminas, no crescimento e sobrevivência do parasita, mas também na evasão da resposta imune do hospedeiro contra o parasita invasor, como relatado por Acunã et al. (2017). Logo, ela pode ser considerada um alvo alternativo para drogas no tratamento da Leishmaniose (VINCENDEAU et al., 2003; DAS et al., 2010).

A glicerol-3 fosfato desidrogenase (GPDH) possui função na utilização do glicerol liberado a partir de lipídios neutros principalmente em amastigotas, o qual os ácidos graxos são predominantemente usados como uma fonte de energia na forma de ATP. Ela catalisa a interconversão de fosfato de dihidroxiacetona (DHAP) e glicerol-3-fosfato (G3P) utilizando NAD como um substrato (MARCHE et al., 2000).

A piruvato quinase catalisa a reação final da glicólise, na qual enolpiruvato e ADP são convertidos em piruvato e ATP, ou seja, sua inibição causaria a diminuição dessas substâncias trazendo prejuízos energéticos ao parasita (MORGAN et al., 2011; MICHELETTI; BEATRIZ, 2012).

As moléculas citadas por Félix et al., 2016, bem como os novos derivados indólicos, foram submetidos ao docking molecular usando o *Molegro Virtual Docker* v. 6.0.1 (MVD). Todas as moléculas de água foram excluídas das estruturas de cada enzima. As enzimas e os compostos foram preparados utilizando parâmetros predefinidos no mesmo software. Para procedimento de acoplamento (ligante – enzima) foi utilizada um grid de 15 Å de raio e 0,30 de resolução que cobre o local do sítio de ligação, definido através de um ligante conhecido para cada enzima. Foi gerado o modelo para realizar o encaixe com características esperadas entre o ligante e a enzima, utilizando o algoritmo *Moldock score* (GRID) como função de pontuação e o algoritmo de busca foi o *Moldock144*.

4.5 VOLUME DE SUPERFÍCIE POLAR

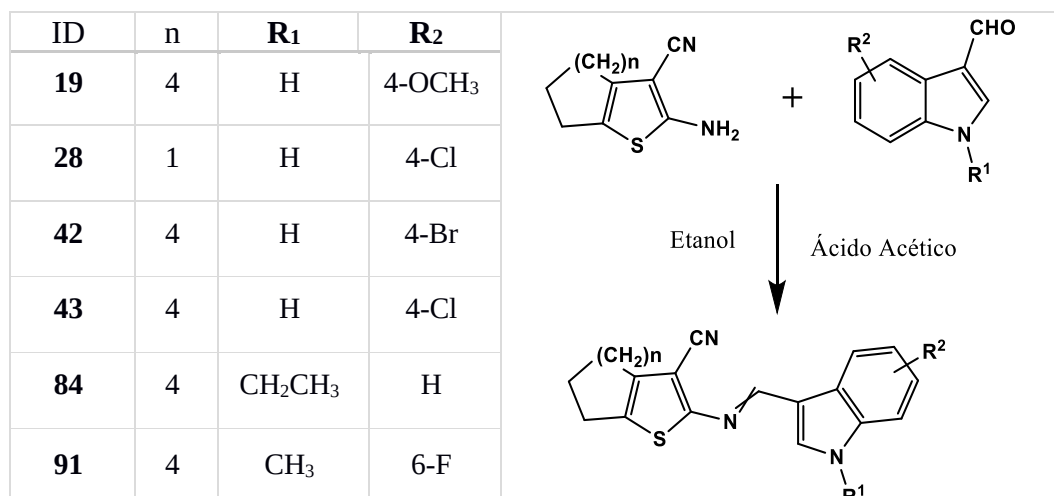
Para o cálculo do volume da superfície polar foi utilizado o Volfurf + (versão 1.0). Utilizando a ferramenta *GRID Field* foi possível visualizar os níveis de lipofilicidade e hidrofiliicidade dos compostos sintetizados.

Por meio daquela ferramenta é possível obter dados que auxiliam na interpretação do modo de interação de cada região do composto avaliado e do sítio ativo, pois relaciona a absorção, distribuição, potência e eliminação do composto, a fim de contribuir para a otimização dos compostos (CRUCIANI et al., 2000).

4.6 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO

Os derivados tiofênicos-indólicos foram sintetizados no Laboratório de Síntese e Vetorização de Moléculas (LSVM), da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), sob a supervisão do professor Dr. Francisco Jaime Bezerra Mendonça Junior.

Um mistura de reação contendo quantidades equimolares (0,30 mmol) de 2-amino-5,6-dihidro-4*H*-ciclopenta[*b*]tiofeno-3-carbonitrila (para a síntese de **28**) e 2-amino-4,5,6,7,8,9-hexahidrocicloocta[*b*]tiofeno-3-carbonitrila (para todos os outros compostos) e indol-3-carboxaldeído substituído em etanol absoluto (5 mL), e cinco gotas de ácido acético foram agitadas sob refluxo por duas horas e depois resfriado à temperatura ambiente. O precipitado formado foi filtrado através de um funil sinterizado e lavado sucessivamente com água destilada. O licor mãe foi novamente filtrado através de funil com placa porosa sinterizada e os sólidos recuperados após secagem em dessecador, foram recristalizados em etanol absoluto, proporcionando os compostos híbridos desejados (**Esquema 2**) (MENDONÇA JUNIOR et al, 2011; FÉLIX et al., 2016; 2020).

Esquema 2 - Procedimento geral de síntese dos derivados 2-amino tiofenos indólicos


*ID: Identificação
Elaboração própria, 2020.

Todos os reagentes químicos e solventes utilizados, foram adquiridos na *Sigma-Aldrich* (St. Louis, MO, EUA) e utilizados sem purificação adicional. A reação foi monitorada por CCD, executada em folhas de alumínio revestidas com sílica gel (sílica gel 60 GF254, E. Merck, Alemanha) e visualizada em luz UV (254 nm).

Os compostos sintetizados foram caracterizados por ESI-MS (Espectrometria de massas com ionização electrospray) (alta resolução), utilizando um microTOF II (Bruker) e por espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) ¹H, ¹³C.

Os espectros de RMN foram registrados em um espectrômetro Bruker Avance 400MHz RMN em DMSO deuterado. O deslocamento químico (TM) foi relatado em partes por milhão (ppm) no campo usando como referência o tetrametilsilano (TM = 0). A constante de acoplamento "J" foi expressa em Hertz (Hz). Os dados foram relatados na seguinte ordem: deslocamento químico, multiplicidade, número de prótons e constante de acoplamento. A multiplicidade de sinais de próton foi relatada como s: singletto; bs: singuleto largo; d: dupletto; t: tripleto; q: quarteto; dd: duplo dupletos; dt: duplo tripleto; m: multipletto.

4.7 ANÁLISE DA ESTRUTURA CRISTALINA POR RAIOS X DO COMPOSTO 19

A coleta de dados de difração de raios X foi realizada em colaboração com a Universidade São Paulo (USP), usando um difratômetro *Enraf-Nonius Kappa-CCD* (câmera CCD de 95 mm em um κ -goniostato) usando radiação MoK α monocromada com grafite (0,71073Å) à temperatura

ambiente. Os dados foram coletados com a utilização do *software COLLECT* (Enraf-Nonius, 1997-2000) até 50 ° em 2 θ .

A integração e escala das reflexões e a correção dos efeitos de *Lorentz* e de polarização foram realizadas usando o *software HKL DENZO-SCALEPACK* (OTWINOWSKI; MINOR, 1997). As estruturas dos compostos foram resolvidas por métodos diretos usando *SHELXS-97* (SHELDRICK, 1997). O modelo foi refinado por mínimos quadrados de matriz completa em F² usando *SHELXL-97* (FARRUGIA, 1997). O programa *ORTEP-3* (FARRUGIA, 1997) foi utilizado para a representação gráfica e o programa *WINGX* (FARRUGIA, 1999) foi utilizado para a preparação dos materiais para publicação. Todos os átomos de H foram localizados com base em considerações geométricas (C–H = 0.93–0.97 Å) e refinados com Uiso (H) = 1,5 Ueq (C-metil) ou 1,2 Ueq (outro). O número de referência do composto é CCDC 1951982. As cópias do material disponível podem ser obtidas gratuitamente, mediante solicitação ao diretor, CCDC, 12 Union Road, Cambridge CH21EZ, Reino Unido (fax: + 44-1223-336-033, e-mail: deposit@ccdc.cam.ac.uk ou <http://www.ccdc.cam.ac.uk>).

4.8 MANUTENÇÃO DOS PARASITAS E CÉLULAS

As formas promastigotas de *Leishmania (Leishmania) amazonensis* (IFLA/BR/67/PH8) utilizadas neste trabalho, foram mantidas a 26 °C em meio de Schneider suplementado (soro bovino FETAL (SBF) inativado por calor (20%), 100 U/mL de penicilina e 100 mg/L de estreptomicina) (NÉRIS et al., 2013). As formas amastigotas axênicas extracelulares foram obtidas seguindo uma metodologia descrita anteriormente (UEDA-NAKAMURA et al., 2006). As formas promastigotas na fase estacionária de crescimento foram diferenciadas em amastigotas axênicas pela combinação de um aumento de temperatura (32 °C) e diminuição do pH (4,6).

A linhagem celular J774A.1 de macrófagos murinos foi mantida em frascos de cultura contendo meio RPMI 1640 suplementado com concentração final de 10% de SBF e 100 U/mL de penicilina e 100 µg/mL de estreptomicina a 37 °C, 5% de CO₂ e 80% de umidade (SHIO et al., 2015).

4.9 AVALIAÇÃO *IN VITRO* DE FORMAS PROMASTIGOTAS E AMASTIGOTAS AXÊNICAS DE *L. amazonensis*

A inibição do crescimento do parasita foi testada como descrito por Barbosa et al.(2011). Portanto, formas promastigotas ou amastigotas axênicas (1x10⁶ células) foram coletadas em fase de crescimento exponencial e incubadas em meio Schneider suplementado, na presença e ausência de

várias concentrações dos compostos-alvo e dos fármacos de referência (antimônio de meglumina e anfotericina B).

As culturas foram mantidas por 48 h em uma incubadora de demanda biológica de oxigênio (B.O.D.) a 25 °C (promastigotas) e 32 °C (amastigotas axênicas), sendo a viabilidade avaliada pela adição de 10 mL de MTT (5 mg / mL). Após 4 h de incubação, foi adicionado SDS a 10% para dissolver os cristais de *formazan* e a absorbância foi avaliada usando um espectrofotômetro (modelo Biosystems ELx800, Curitiba, PR, Brasil) a 540 nm (RODRIGUES et al., 2015).

4.10 ENSAIO PARA ANÁLISE DA CITOTOXICIDADE *IN VITRO* EM MACRÓFAGOS (JC774A.1)

Por meio do teste de MTT (ALIANÇA et al., 2017) foi possível verificar a viabilidade dos macrófagos. Aproximadamente 1×10^6 macrófagos por poço foram semeados em placas de 96 poços com meio RPMI 1640 suplementado na presença ou ausência de tiofenos e fármacos de referência a 37 °C e CO₂ a 5% por 24 horas. Após a incubação, a citotoxicidade foi determinada pela adição de 10 mL de MTT (5 mg/mL) e após quatro horas, foi adicionado 10% de dodecil sulfato de sódio (SDS). Finalmente, as leituras foram realizadas a 540 nm em um leitor de microplacas.

4.11 *CHEMBENCH*

4.11.1 Banco de dados

Para obter o banco de dados, foram utilizados o *CHEMBL* (<https://www.ebi.ac.uk/chembl/>) e *PubChem* (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>). Sendo os dados das espécies *L. donovani* e *L. infantum* extraídas do *CHEMBL* e de *L. braziliensis* extraídas das duas bases de dados. Inicialmente, foi selecionado um conjunto classificado de acordo com a forma parasitária: *L. donovani*: promastigota (1987 estruturas) e amastigota (3935 estruturas), *L. braziliensis*: promastigota (270 estruturas), para esta espécie, não foi encontrado dados suficientes para realizar a construção do modelo de predição com as formas amastigotas, *L. infantum*: promastigota (1960 estruturas) e amastigota (1884 estruturas). Visando a obtenção de um modelo qualitativo, as estruturas foram divididas em ativas e inativas com base em seus valores $\log IC_{50} (\text{mol.L}^{-1}) = pIC_{50}$, com valores de corte em torno de 5 (representando 50% da atividade). No tratamento dos dados, com o intuito de construir modelos mais restritivos, duplicatas foram excluídas com a ajuda da ferramenta *EXCEL* 2010 e *HitQSAR* (usado como instrumento para o *design* molecular de novos compostos) (KUZ'MIN

et al., 2008). Para padronizar todos os códigos *SMILE*, foi utilizado o *software Standardizer* (Jchem, versão 16.11.28 (2016)). Todas as estruturas identificadas com problemas estruturais foram excluídas.

Finalmente, as estruturas consideradas ativas para *L. donovani* foram 500 (promastigotas) e 1.143 (amastigotas) e consideradas inativas foram 560 (promastigotas) e 979 (amastigotas), sendo um somatório final de 1.060 (promastigotas) e 2.122 estruturas (amastigotas). Para *L. braziliensis*, 95 estruturas foram consideradas ativas e 174 inativas para a forma promastigota (total de estruturas = 269). Para *L. infantum*, 186 (promastigotas) e 188 (amastigotas) estruturas foram consideradas ativas e 111 (promastigotas) e 104 (amastigotas) foram consideradas inativas, sendo um total de 297 (promastigotas) e 292 (amastigotas) estruturas.

Os compostos utilizados para predição foram os 92 novos derivados do 2-amino tiofeno indólicos desenhados com o *MarvinSketch* 17.15 e, para todas as estruturas, foram utilizados códigos *SMILES*, que serviram como dados de entrada para o *software Standardizer* [JChem 14.9.1.0, 2014].

4.11.2 Modelo de predição

Com o auxílio do *Chembench* (<https://chembench.mml.unc.edu/>), uma plataforma gratuita, que funciona com uma ferramenta baseada na *Web* para modelagem e predição de QSAR, os dados químicos e biológicos foram extraídos e obtidos os descritores com os quais se construíram os modelos de predição para todas as espécies de *Leishmania* analisadas. Essa plataforma tem como objetivo auxiliar no projeto e na seleção racional de novos compostos ou bibliotecas de compostos com taxas de acerto significativamente melhoradas em experimentos de triagem. Tem sido utilizado para pesquisas em genômica química, descoberta de medicamentos, toxicologia computacional, entre outros (CAPUZZI et al., 2017). Os descritores selecionados foram o CDK (com 202 descritores) e o *DRAGON 7* (com 3.850 descritores). Foi utilizado o algoritmo *Random Forest* (RF), que produz classificações confiáveis usando predições derivadas de um conjunto de árvores de decisão (BREIMAN, 1999). A inserção dos dados na plataforma foi realizada por meio de dois arquivos, nos formatos “act” e “SDF”, os quais foram convertidos dos formatos “csv” e “sdf” (standardizer) através do *software Knime* 3.1.0 (KNIME 3.1). Copyright da Konstanz Information Miner, 2003-2014 (<http://www.knime.org>) (BERTHOLD et al., 2009). Modelos foram construídos para cada forma parasitária, usando separadamente as classes de descritores acima mencionadas. Houve uma mudança no número de árvores de decisão para as diferentes formas do parasita e para as classes de descritores. Para ambas as formas parasitárias de *L. donovani* foram utilizadas 1000 árvores (para ambos os descritores). E para *L. braziliensis* foram utilizadas 100 árvores de decisão para ambas as formas

parasitárias e descritores. Para a forma promastigota de *L. infantum* foram utilizadas 50 árvores de decisão (descritores CDK) e 1000 árvores de decisão (descritores DRAGON); e para a forma amastigota de *L. infantum* foram utilizadas 100 (descritores CDK) e 1000 árvores de decisão (descritores DRAGON).

Para a predição, foram utilizados os modelos com maiores valores de Q^2 e para o "ponto de corte do domínio de aplicabilidade", foi selecionado o 3σ . Para os cálculos de similaridade foi utilizado o Mudra com seu algoritmo baseado em single k-nearest neighbors – “vizinho mais próximo” (kNN) e em vários tipos de descritores (ALVES et al, 2018).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 MODELOS DE PREDIÇÃO

Primeiramente, foram obtidos 863 descritores a partir dos compostos citados por Félix et al. (2016) e, em seguida, foi construído os modelos realizando uma análise múltipla sendo selecionados 2 modelos, 17 (**Tabela 3**) e 29 (**Tabela 4**).

Dentre os meios para validação do modelo, encontram-se alguns parâmetros que foram utilizados neste trabalho, como o R^2 (*Fitting*) que é geralmente definido como o quadrado do coeficiente de correlação entre os valores observados e previstos em uma regressão (ALEXANDER et al., 2015). Sua representação pode ser visualizada de forma simples por meio da **Equação 1**:

Equação 1 - R^2 Fitting

$$(1) \quad R^2 = 1 - \frac{\sum (y - \hat{y})^2}{\sum (y - \bar{y})^2}$$

Elaboração própria, 2020.

Sendo y a variável de resposta observada, $\bar{y}$ é a média e $\hat{y}$ é o valor previsto correspondente. O numerador da fração na **Equação 1** é a soma dos quadrados dos resíduos (RSS), vale lembrar que bons modelos apresentam pequenos resíduos. Esta é a medida mais utilizada para avaliar a capacidade de um modelo QSAR para reproduzir os dados do treino (ALEXANDER et al., 2015). Além disso, outro parâmetro útil é o *Standard Deviation Error in Prediction* (SDEP), um tipo de cálculo para análise do erro do desvio-padrão das predições, utilizado geralmente na validação cruzada (GRAMATICA, 2007).

O R^2 (*Ajusted*) compara o poder explicativo dos modelos de regressão que contêm diferentes números de preditores. É uma versão modificada de R^2 que foi ajustada para o número de preditores no modelo, pode ser negativo, mas geralmente não é. É sempre inferior ao R^2 (*Fitting*). Sendo este último, o responsável por mostrar quão bem os termos (pontos de dados) se encaixam em uma curva ou linha, bem como o R^2 *Ajusted*, que também indica quão bem os termos se encaixam em uma curva ou linha, porém ajusta-se para a quantidade de termos em um modelo. Pode ser representado por meio da seguinte **Equação 2** (TODESCHINI et al., 2003):

Equação 2 - R^2 *Ajusted*

$$R^2_{adj} = 1 - (1 - R^2) \frac{n-1}{n-p}$$

Sendo n é o número de objetos do treino e p é o número de parâmetros do modelo.
Elaboração própria, 2020.

Para se obter informações sobre a robustez e previsibilidade do modelo, são utilizados meios de validação interna e externa por meio do Q^2 (coeficiente de predição) (**Equação 3**). Os métodos de validação providenciam uma maneira de tentar superar alguns dos problemas inerentes ao uso do valor R^2 sozinho, podendo envolver a remoção de alguns dos valores do conjunto de dados, restando a utilização dos dados remanescentes e, em seguida, a aplicação deste modelo para prever os valores dos dados que foram removidos. A forma mais simples de validação cruzada é a abordagem *leave-one-out* (LOO), de forma que apenas um único valor de dados é removido (GOLBRAIKH & TROPSHA, 2002).

Equação 3. Q^2

$$Q^2 = 1 - \frac{\sum (y_i - \hat{y}_i)^2}{\sum (y_i - \bar{y})^2}$$

Elaboração própria, 2020

Tabela 3 - Modelo de regressão 17

	Variável	Coefficiente de Regressão	Erro – coeficiente de regressão	Intervalo de confiança (.95)	Std. Coeficiente de regressão
-	Constante	4,122	0,031	0,067	-
1	RGes	0,167	0,036	0,077	0,210

2	VE1_B(p)	0,499	0,048	0,103	0,522
3	MATS6v	-0,199	0,025	0,054	-0,326
4	Mor18s	0,297	0,039	0,084	0,318
5	Neoplastic-80	-0,343	0,040	0,086	-0,468

Elaboração própria, 2020.

A partir do modelo da **Tabela 3**, cinco descritores foram selecionados para compor a **Equação**

4:

Equação 4 - Modelo de regressão 17

$$(3) \text{pIC}_{50} = 4,122 + 0,167 (\text{rGes}) + 0,499 (\text{VE1_B(p)}) - 0,199 (\text{MATS6v}) + 0,297 (\text{Mor18s}) - 0,343 (\text{Neoplastic-8})$$

R² Fitting: 98,08

Q² LOO: 95,89

R² adjusted: 97,34

SDEP: 0,13

RSS: 0,15

Elaboração própria, 2020.

Com relação aos descritores, é possível fazer uma explanação a respeito.

O descritor rGes (*Information* índices), com contribuição positiva para o modelo, simboliza o número de classes de simetria no estado eletrotopológico (Ges) e sua contrapartida relativa (rGes), calculados com base na partição de vértices de acordo com os valores de seus estados eletrotopológicos. Estes são os índices estatísticos eletrotopológicos de Kier e Hall (1990), sendo I_i o estado intrínseco do átomo i th e ΔI_i é o efeito de campo no átomo i th calculado como perturbação por todos os outros átomos na molécula, d_{ij} é a distância topológica entre os átomos i th e j th, n_{SK} é o número de átomos que não são hidrogênio na molécula. Os índices topológicos são úteis pois traduzem a constituição química em valores numéricos (VOELKEL, 1994).

O descritor VE1_B(p) (*Coefficient sum of the last eigenvector from Burden matrix weighted by polarizability - 2D matrix-based descriptors*) representa matrizes de adjacência aumentadas (matriz binária quadrada, cujos elementos são iguais a 1 se correspondem a pares de átomos adjacentes) derivadas de um gráfico molecular desprovido de H sendo os elementos diagonais propriedades atômicas em escala de carbono (w_i / w_C) e os elementos fora da diagonal, correspondentes aos pares de átomos ligados, são as raízes quadradas das ligações convencionais. As entradas correspondentes às ligações terminais, são aumentadas em 0,1 (KODE srl, 2016). Todos os outros elementos da matriz são ajustados em 0,001. Este descritor possui contribuição positiva para o modelo.

O descritor MATS6 (*Moran autocorrelation of lag 6 weighted by Van der Waals volume - 2D autocorrelations*), apresentou uma contribuição negativa para o modelo, resultado de uma autocorrelação espacial negativa. Determina como os volumes atômicos de Van der Waals são distribuídos ao longo da estrutura topológica da molécula (NAJAFI et al., 2011). Pode ser representado da seguinte forma (5):

Equação 5 - Descritor MATS6

$$\text{MATS6}_{wv} = \frac{\frac{1}{\Delta} \cdot \sum_{i=1}^{\text{nAT}} \sum_{j=1}^{\text{nAT}} \delta_{ij} \cdot (w_i - \bar{w}) \cdot (w_j - \bar{w})}{\frac{1}{\text{nAT}} \cdot \sum_{i=1}^{\text{nAT}} (w_i - \bar{w})^2}$$

Elaboração própria, 2020.

Assim, w_i é qualquer propriedade atômica, nAT o número de átomos, δ_{ij} é o delta *Kronecker* (distância topológica entre dois átomos considerados). Δ é a soma dos deltas de *Kronecker*, ou seja, o número de pares de átomos à distância igual a k (KODE srl, 2016). Uma autocorrelação positiva, corresponde a resultados positivos do coeficiente, o contrário é também válido.

Analisando as séries de moléculas em questão, observamos que as quatro moléculas com os maiores resultados deste descritor, levando em consideração cada série de forma individual e o pIC₅₀ das substâncias, foram as moléculas sem substituição (TN5, TN6, TN7 e TN8) e as que apresentavam radical “3” (-CH₃ na posição 7) (TN5-3, TN6-3, TN7-3, TN8-3), “4” (grupo nitro) (TN5-4, TN6-4, TN7-4, TN8-4) e “6” (presença da piridina) (TN5-6, TN6-6, TN7-6, TN8-6), ou seja, a autocorrelação dos átomos envolvidos na composição destas moléculas não favoreceu a atividade biológica em comparação às demais.

O descritor Mor18s (*signal 18 / weighted by I-state - 3D-MORSE descriptors*) baseia-se na ideia de obter informações a partir das coordenadas atômicas 3D pela transformação usada em estudos de difração de elétrons para a preparação de curvas teóricas de dispersão (SCHUUR et al., 1996). A fim de obter descritores de comprimento uniforme, a distribuição de intensidade é feita discreta, calculando o seu valor em uma sequência de valores uniformemente distribuídos.

O último descritor selecionado neste modelo foi o Neoplastic-80 (Ghose-Viswanadhan-Wendoloski antineoplastic-like index at 80% - Drug-like índices), este analisa a semelhança dos compostos avaliados comparados a substâncias já conhecidas, adotando-se como critério: quando todos os sistemas da definição de consenso de uma molécula semelhante a fármaco são satisfeitos, o valor do descritor igual a um e zero caso contrário. Estes são filtros usados para extrair bons candidatos a fármacos de grandes coleções de compostos (KODE srl, 2016).

Com relação aos 32 compostos avaliados, observa-se que para este descritor, cuja a contribuição para o modelo é negativa, a grande maioria das moléculas sem substituição, com radical “6” (TN6-6, TN7-6 e TN8-6) e todas as com radical “7” (TN5-7, TN6-7, TN7-7 e TN8-7), apresentaram os maiores valores, sugerindo que a presença da piridina e do cianeto desfavorece essa semelhança com fármacos antineoplásicos. Além disso, vale ressaltar que os compostos com radicais “2”) (exceto o TN5-2) e “5” apresentaram menores valores para esse descritor, sugerindo que a presença da metoxila e o aumento do anel indólico, favoreceram a aproximação com compostos antineoplásicos já conhecidos. Dessa forma, pode-se sugerir uma parte dos compostos com radicais “1” (TN5-1, TN8-1), “3” (TN5-3, TN6-3, TN7-3) e “4” (TN7-4, TN8-4).

Tabela 4 - Modelo de regressão 29

	Variável	Coefficiente de Regressão	Erro – coeficiente de regressão	Intervalo de confiança (.95)	Std. Coeficiente de regressão
-	Constante	3,824	0,086	0,186	-
1	VE1_B(p)	0,763	0,050	0,109	0,799
2	RDF150m	-1,488	0,373	0,805	-0,231
3	RDF055v	0,387	0,038	0,082	0,665
4	Mor18s	0,812	0,075	0,162	0,870
5	R3m+	-0,463	0,057	0,123	-0,514

Elaboração própria, 2020.

Do modelo da **Tabela 4**, também foram selecionados 5 (cinco) descritores para compor a **Equação 6**:

Equação 6 - Modelo de regressão 29

$$pIC_{50} = 3,824 + 0,763 (VE1_B(p)) - 1,488 (RDF150m) + 0,387 (RDF055v) + 0,812 (Mor18s) - 0,463 (R3m+)$$

R² Fitting: 97,13

Q² LOO: 93,50

R² adjusted: 96,03

SDEP: 0,17

RSS: 0,22

Elaboração própria, 2020.

O modelo da **Equação 5** apresentou dois descritores semelhantes ao modelo anterior e que já foram descritos neste tópico (VE1_B(p) e Mor18s). Os demais serão abordados a seguir.

Os descritores RDF (Função de distribuição radial) são baseados em uma função de distribuição radial na representação geométrica da molécula, sendo a distribuição de probabilidade de encontrar um átomo em um volume esférico de raio R (GRAULS, 2013). A forma geral da função de distribuição radial é representada pela **Equação 7**:

Equação 7 - Descritor RDF

$$RDFRw = f \cdot \sum_{i=1}^{nAT-1} \sum_{j=i+1}^{nAT} w_i \cdot w_j \cdot e^{-\beta(R-r_{ij})^2}$$

Elaboração própria, 2020.

Sendo o f um fator de escala (igual a 1 nos cálculos), w indica propriedades características dos átomos i e j , r_{ij} é a distância interatômica e nAT é o número de átomos na molécula (HEMMER et al., 1999). No caso dos descritores selecionados para este modelo, um utiliza a massa atômica, com função de radial 15 (RDF150m) e o outro utilizou o volume van der Waals (v), com função radial - 5.5 (RDF055v) como ponderações atômicas.

O descritor RDF150m, apresentou contribuição negativa para o modelo, nota-se que todos os compostos sem o substituinte (TN5, TN6, TN7 e TN8) apresentaram altos valores dos descritores, desfavorecendo a atividade biológica, bem como os compostos com radicais “1” (exceto TN8-1). Alguns compostos com radical “2” (TN5-2, TN6-2, TN7-2), “3” (TN5-3, TN7-3), “5” (TN6-5, TN7-5, TN8-5), “6” (TN5-6, TN6-6) e “7” (TN5-7, TN6-7), apresentaram menores valores deste descritor, sugerindo uma maior contribuição na eficácia biológica destes compostos. Vale ressaltar que, todos os compostos com a porção indólica com o substituinte 4-nitro (radical “4”), apresentaram menores resultados do descritor em questão, o que poderia indicar um possível favorecimento da atividade biológica.

O descritor RDF055v apresenta uma contribuição positiva no modelo. Observando as moléculas descritas por Félix et al. (2016), percebe-se que todas aquelas com radicais “1”, “2”, “3” e “4” apresentaram valores os mais altos para este descritor, indicando que a presença de tais substituintes no anel indólico pode vir a favorecer a atividade biológica, levando-se em consideração a propriedade presente representada pelo descritor em questão.

Os descritores de autocorrelação *GETAWAY*, codificam a informação da geometria dada pela influência da matriz molecular e a informação topológica dada pelo gráfico molecular, ponderada por informações químicas codificadas em átomos selecionados. Os R-GETAWAY, utilizam de elementos da matriz de influência molecular combinados com os da matriz de geometria (CONSONNI et al., 2002). São baseados em fórmulas de autocorrelação espacial que pesam os átomos da molécula de forma a ter em conta a massa atômica, a polarização, o volume van der Waals e a eletronegatividade,

bem como a informação 3D codificada pelos elementos da influência/distância molecular (GRAULS, 2013; KODE srl, 2016). No caso do modelo em questão, o descritor selecionado foi o R3m+ (R autocorrelação máxima de lag 3/ponderada por massas atômicas) (**Equação 8**).

Equação 8 - Descritor R3m+

$$Rkw + \max_{ij} \left(\frac{\sqrt{h_{ii} \cdot h_{jj}}}{r_{ij}} * w_i * w_j * \delta(k, dij) \right) i \neq j, k = 1, 2, \dots, 8$$

Elaboração própria, 2020.

Sendo d_{ij} é a distância topológica entre os átomos i e j , w_i é uma propriedade atômica físico-química.

Em análise das moléculas até então aqui estudadas, percebe-se que todas as moléculas com o cianeto como substituinte (“radical “7”) e com o grupamento 4-nitro (radical “4”), apresentaram altos valores deste descritor, sugerindo um desfavorecimento da atividade biológica, visto a contribuição negativa do descritor para o modelo. Da mesma forma, dois dos compostos com a piridina (radical “6”), mostraram-se também entre os com mais altos valores (TN6-6 e TN7-6). No entanto, os compostos com grupamentos metil na posição 5 (exceto TN8-1), na posição 7 (exceto TN5-3), metoxila (exceto TN7-2), mostraram-se com menores valores do descritor, portanto, favorecem a eficácia biológica.

O valor de coeficiente de predição interna (Q^2), demonstra a robustez encontrada nos dados, visto o baixo valor do desvio (SDEP) e do erro (RSS). Além disso, nota-se a partir das tabelas, para todos os descritores selecionados, o intervalo de confiança foi menor do que o coeficiente de regressão (R^2), conferindo a validade do modelo.

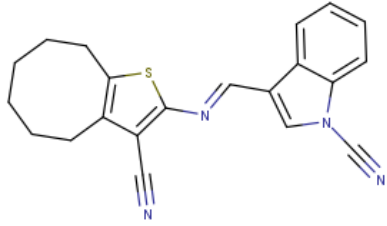
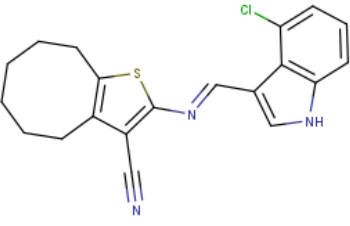
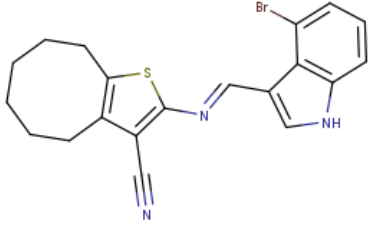
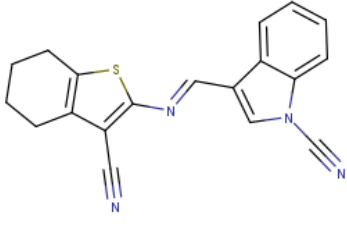
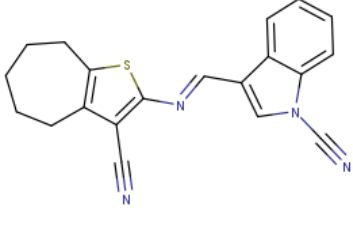
É importante enfatizar que apesar da confiabilidade do modelo, não é possível chegar a descrição da molécula ideal devido a vários fatores, inclusive a complexidade do modelo em questão, visto a dificuldade na interpretação de alguns dos descritores. No entanto, podemos inferir algumas características que poderiam vir a influir positivamente na atividade, a exemplo da inserção de grupos com caráter mais polar podendo ser de grande volume atômico no anel indólico, com indícios de que a eficácia independa do número de carbonos no anel base combinado.

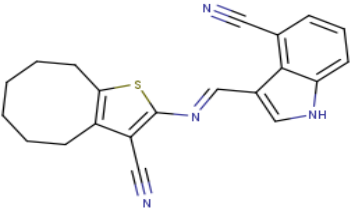
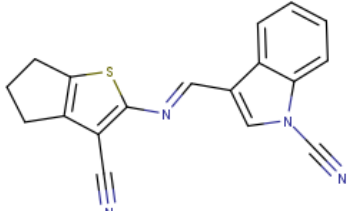
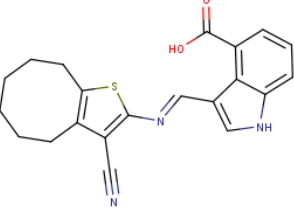
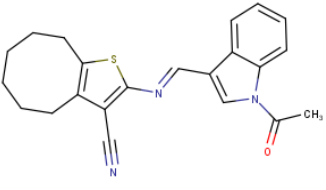
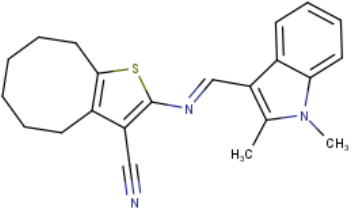
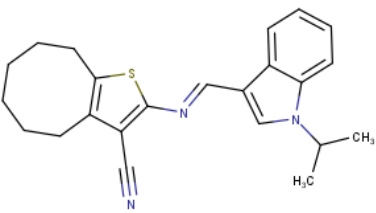
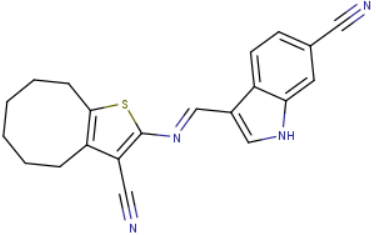
Diante disto, planejamos 92 estruturas derivadas dos 2-aminotiofenos indólicos (**ANEXO I**), que foram analisados nos modelos descritos acima, e tiveram a média dos seus valores de pIC_{50} calculados, sendo os 30 compostos com melhores valores selecionados para a avaliação de *docking* molecular juntamente com as moléculas descritas por Félix et al. (2016) (**Tabela 5**).

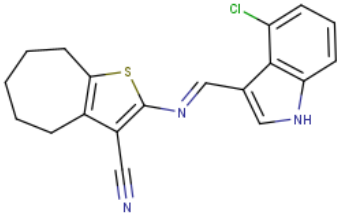
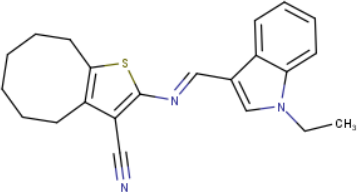
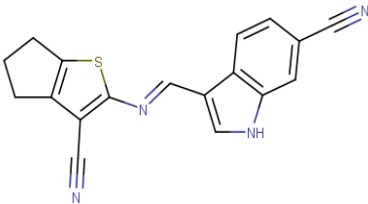
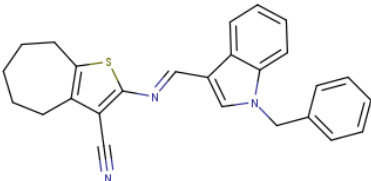
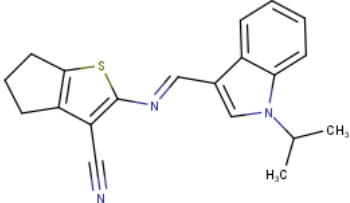
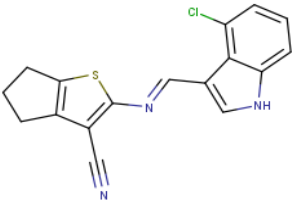
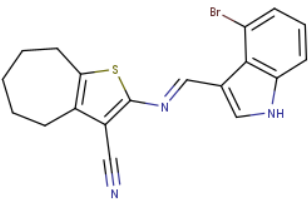
Dentre estas, as duas substâncias com melhores pIC_{50} preditos, foram a **90** e **43**, contendo como substituinte dois grupos de caráter polar, uma nitrila ligada ao nitrogênio do anel indólico e um

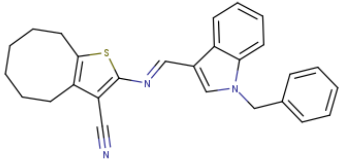
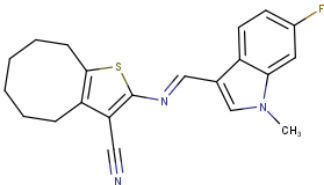
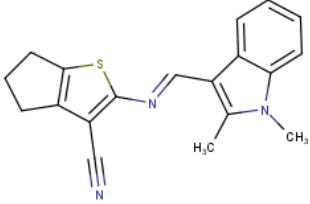
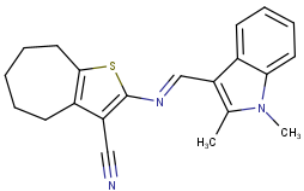
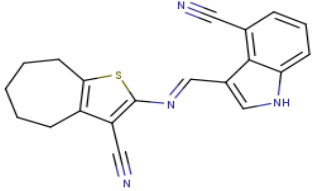
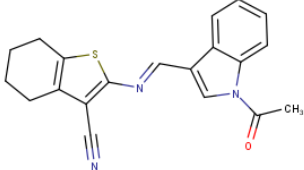
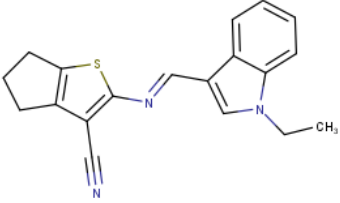
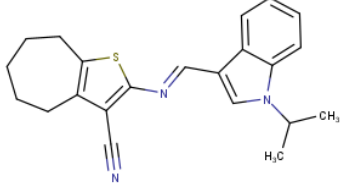
cloro ligado ao benzeno do indol, ambas com oito carbonos no anel principal. Vale ressaltar que todas as novas moléculas planejadas e selecionadas, apresentaram valores de pIC_{50} preditos maiores do que as substâncias citadas por Félix et al. (2016) (**Tabela 1**), gerando expectativas positivas acerca da eficácia desses compostos quanto a ação anti-*Leishmania*.

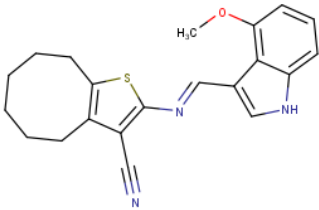
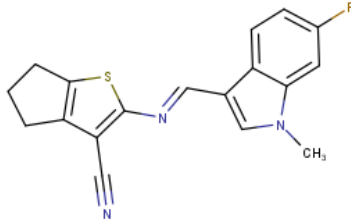
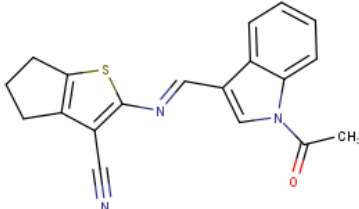
Tabela 5 - Média do pIC_{50} predito das moléculas selecionadas (30) para a realização do *docking*

ID	Estrutura	Média
90		6.80
43		6.57
42		6.55
65		6.53
78		6.50

23		6.45
51		6.42
88		6.41
83		6.36
82		6.35
85		6.21
24		6.20

38	 <chem>N#CC1=C(C2=CC=CC=C2N)N=NC3=C(C#N)S=C4CCCCC34</chem>	6.20
84	 <chem>CCN1C=CC2=CC=CC=C2N1C=NC3=C(C#N)S=C4CCCCC34</chem>	6.19
6	 <chem>N#CC1=C(C2=CC=CC=C2N)N=NC3=C(C#N)S=C4C=CC5=CC=CC=C5N34</chem>	6.19
69	 <chem>c1ccccc1CN2C=CC3=CC=CC=C3N2C=NC4=C(C#N)S=C5CCCCC45</chem>	6.17
49	 <chem>CC(C)N1C=CC2=CC=CC=C2N1C=NC3=C(C#N)S=C4C=CC5=CC=CC=C5N34</chem>	6.16
28	 <chem>N#CC1=C(C2=CC=CC=C2N)N=NC3=C(C#N)S=C4C=CC5=CC=CC=C5N34</chem>	6.14
37	 <chem>N#CC1=C(C2=CC=CC=C2N)N=NC3=C(C#N)S=C4C=CC5=CC=CC=C5N34</chem>	6.13

81		6.12
91		6.11
46		6.08
70		6.06
17		6.07
59		6.03
48		6.03
73		6.02

19		6.01
54		6.01
47		6.01

Elaboração própria, 2020.

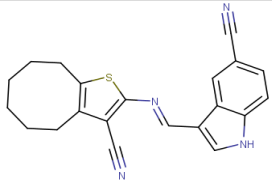
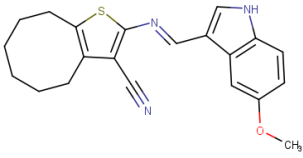
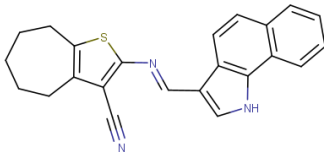
5.2 ANÁLISE DO ESTUDO DE *DOCKING*

Esta análise busca por meio da predição de ligações não covalentes, reportar os potenciais químicos que configuram a conformação basal ligante/enzima e a energia requerida (TROTT & OLSON, 2009; COSCONATI et al., 2010).

Aborda-se os resultados de apenas uma enzima de cada classe estudada (Arginase: 4IU1, Glicerol-3-fosfato desidrogenase: 1JDJ, Piruvato Quinase: 3QV8), as de melhores resultados, cuja foi realizada a seleção de três compostos do estudo de Félix et al. (2016), sendo estes os de menor energia de ligação, ou seja, maior estabilidade na interação ligante-receptor em comum nas três enzimas escolhidas (**Tabela 6**).

Tabela 6 - Dados de *docking* das moléculas com melhores interações com Arginase (4IU1), Glicerol-3-fosfato desidrogenase (1JDJ) e Piruvato quinase (3QV8)

ID	Estrutura	Energia da molécula (Moldock score - kJ)	Probabilidade
----	-----------	--	---------------

TN8-7		-92.83 (4IU1) -111.32 (1JDJ) -112.94 (3QV8)	0.84 (4IU1) 0.86 (1JDJ) 0.91 (3QV8)
TN8-2		-102.30 (4IU1) -118.68 (1JDJ) -111.47 (3QV8)	0.92 (4IU1) 0.86 (1JDJ) 0.90 (3QV8)
TN7-5		-90.91 (4IU1) -119.28 (1JDJ) -113.52 (3QV8)	0.82 (4IU1) 0.92 (1JDJ) 0.91 (3QV8)
Ligante		-42.567 (4IU1) -44.43 (1JDJ) -60.74 (3QV8)	-

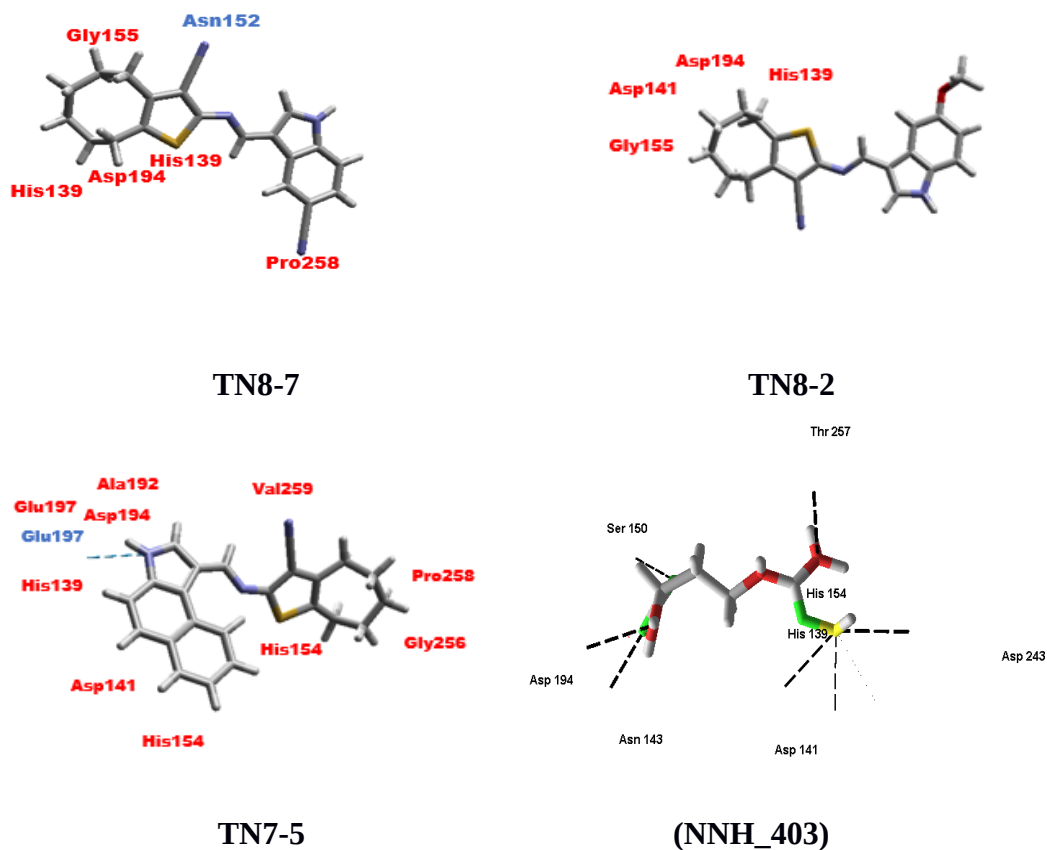
Elaboração própria, 2020.

Observou-se que todas as moléculas selecionadas apresentaram energia de ligação menor do que as dos ligantes PDB, sugerindo enorme estabilidade e, conseqüentemente, maior eficácia. Vale destacar que as duas substâncias com melhores resultados, apresentaram maior estabilidade com enzimas distintas, sendo estas o TN8-2 com a Arginase (probabilidade: 0.92) e TN7-5 com o Glicerol-3-fosfato desidrogenase (probabilidade: 0.91), além disso, todas as moléculas citadas se encontram entre as que apresentam os melhores valores de pIC₅₀ (**Tabela 1**).

Em uma análise das interações envolvidas com a arginase, observamos que para os três compostos avaliados, há a presença de dois resíduos similares entre eles que são His139 e Asp194, encontrado realizando interações estéricas com os hidrocarbonetos dos anéis de 8 e 7 membros, bem como dos acoplados ao anel indólico. Observando o TN8-7 é possível ainda destacar as interações estéricas entre alguns carbonos do anel de 8 membros e o resíduo Gly155, semelhante ao visto também no TN8-2, bem como com o resíduo Pro258, também encontrado no TN7-5, no entanto as interações acontecem no ciano acoplado ao anel indólico. O composto TN8-2, apresenta resíduos similares ao TN7-5, como o Asp141, visto interagindo com os anéis de hidrocarbonetos de ambas as moléculas, porém em regiões diferentes (**Figura 3**).

Reparou-se também o fato de que, o ligante se diferencia dos derivados tiofênicos estudados não só pelos tipos de resíduos com os quais ocorrem as interações, como também o tipo de ligação visualizada, de modo que além de interações estéricas com His154, ocorrem ligações de hidrogênio com Thr257, Asp243, Asp141, Asn143 e Ser150 e interações eletrostáticas com His154, Ser150, Asp194.

Figura 3 - Representações das interações obtidas no Molegro entre as três substâncias selecionadas e o ligante PDB e a Arginase (4IU1)



*Ligações vermelhas: estéricas, azul: ligações de hidrogênio. Elaboração própria, 2020.

As observações podem ser comparadas aos resultados descritos no modelo da **Figura 3**, onde há uma maior probabilidade de se ter atividade anti-*Leishmania* em moléculas com grupos polares, como observado no TN8-2 e TN8-7.

Diante disto, realizamos o *docking* molecular com as 30 novas substâncias selecionadas e observou-se uma grande interação de todas as moléculas com as enzimas selecionadas, em especial o composto **6** com a Arginase e **85** com a Piruvato Quinase, a única exceção foi a molécula **59** e **83** com Arginase (4IU1) e 51 com o Glicerol-3-fosfato desidrogenase (1JDJ), como verificado por meio das probabilidades representadas a seguir (**Tabela 7**):

Tabela 7 - Resultado do *docking* molecular para os 30 novos derivados 2-aminotiofenos indólicos

ID	4IU1 Média	Probabilidade	1JDJ Média	Probabilidade	3QV8 Média	Probabilidade
6	-104.00	1	-92.48	0.8205	-77.06	0.7019

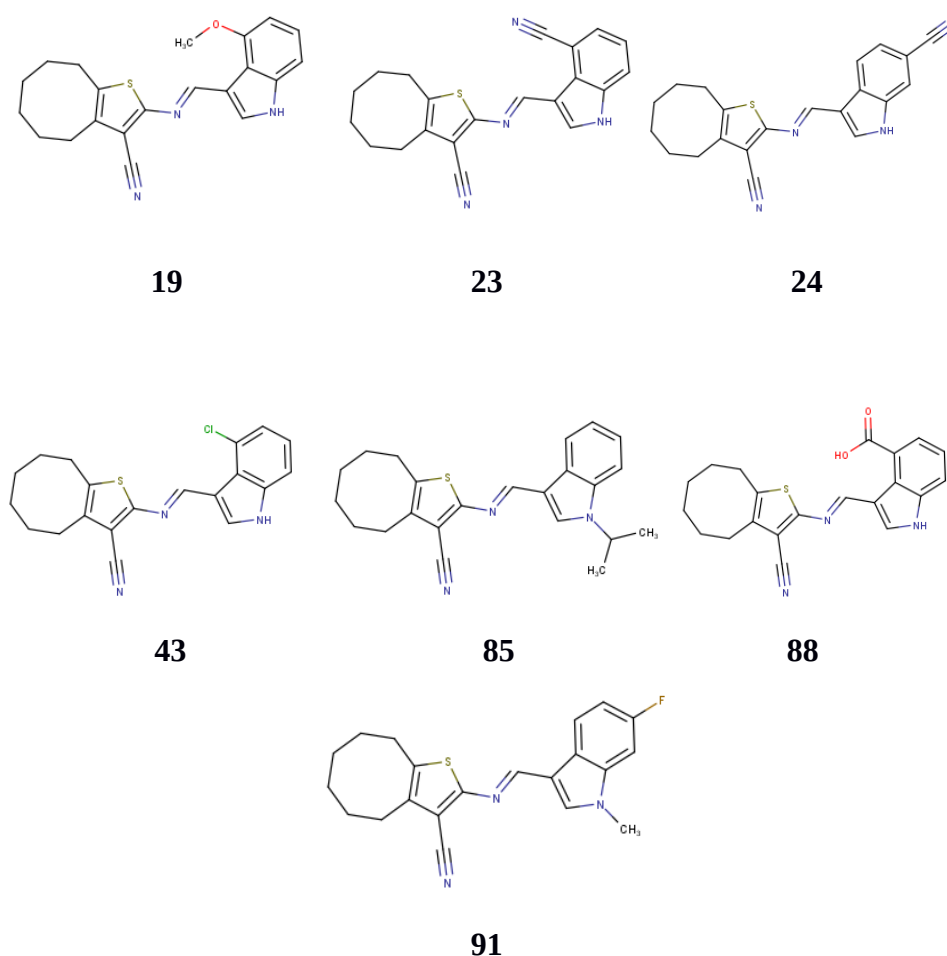
17	-82.78	0.7959	-101.06	0.8966	-92.48	0.8424
19	-76.32	0.7338	-104.02	0.9229	-99.07	0.9024
23	-86.00	0.8268	-112.71	0.8805	-102.31	0.9319
24	-78.58	0.7556	-106.36	0.8322	-96.01	0.8745
28	-48.22	0.4636	-93.56	0.8301	-86.97	0.7922
37	-90.20	0.8673	-90.25	0.8007	-89.23	0.8128
38	-65.37	0.6285	-95.61	0.8483	-89.93	0.8191
42	-73.41	0.7059	-101.76	0.9028	-95.08	0.8661
43	-81.93	0.7878	-100.26	0.8895	-99.17	0.9033
46	-72.14	0.6936	-99.25	0.8805	-90.03	0.8201
47	-49.96	0.4803	-93.80	0.8322	-88.69	0.8078
48	-78.64	0.7561	-96.91	0.8598	-89.93	0.8192
49	-63.75	0.6130	-101.66	0.9019	-103.35	0.9414
51	-71.20	0.6845	-43.97	0	-89.97	0.8195
54	-85.88	0.8258	-98.37	0.8727	-88.68	0.8078
59	-36.16	0	-87.22	0.7738	-84.62	0.7708
65	-69.86	0.6717	-92.53	0.8209	-84.59	0.7705
69	-76.19	0.7326	-80.44	0.7136	-90.57	0.8250
70	-66.40	0.6385	-97.43	0.8645	-92.89	0.8461
73	-58.15	0.5591	-101.70	0.9023	-98.92	0.9011
78	-63.03	0.6060	-98.59	0.8747	-90.21	0.8217
81	-57.68	0.5546	-85.37	0.7574	-95.09	0.8661
82	-61.75	0.5937	-107.34	0.9523	-90.88	0.8278
83	-37.84	0	-108.05	0.9587	-89.31	0.8135
84	-57.94	0.5570	-97.73	0.8671	-105.55	0.9614
85	-64.51	0.6203	-106.41	0.9441	-109.78	1
88	-79.81	0.7674	-107.41	0.9530	-96.12	0.8755
90	-61.98	0.5959	-105.95	0.9400	-96.42	0.8782
91	-65.90	0.6337	-104.99	0.9315	-105.56	0.9615
Lig.	-42.567	-	-44.431	-	-60.741	-

*Lig.: Ligante.

Elaboração própria, 2020.

Ao realizar um *ranking* das 10 moléculas com menor energia de ligação, nota-se que há algumas substâncias em comum entre as três enzimas ou duas delas (destacados em vermelho) (**Tabela 9**). Observando os compostos destacados, verifica-se a presença de grupos substituintes de caráter polar, como nitrila, metoxila, ácido carboxílico, flúor indicando uma conformidade com o modelo obtido, sugerindo uma possível maior atividade com a presença de grupos dessa categoria (**Figura 4**).

Figura 4 - Substâncias em comum com duas ou três das enzimas estudadas.



Elaboração própria, 2020.

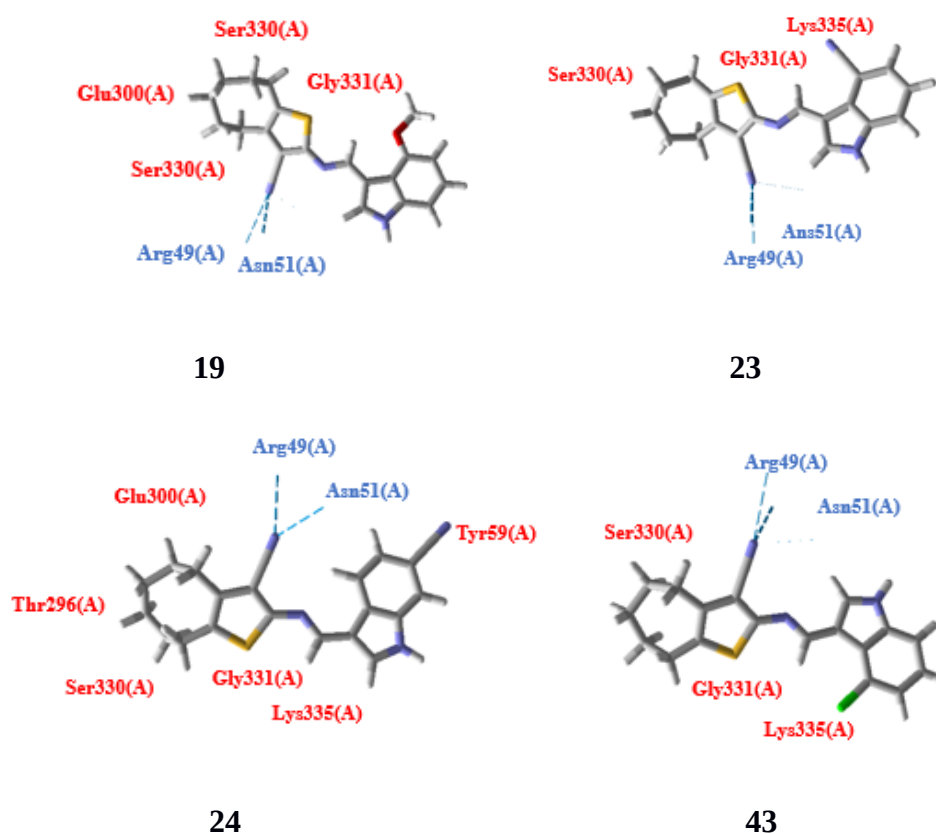
Em uma observação das interações desses compostos com as enzimas estudadas, pode-se verificar a existência de resíduos críticos e interações semelhantes entre eles. Destacam-se as interações enzimáticas dos compostos com as menores energias de ligações, ou seja, com as enzimas que apresentaram maior estabilidade.

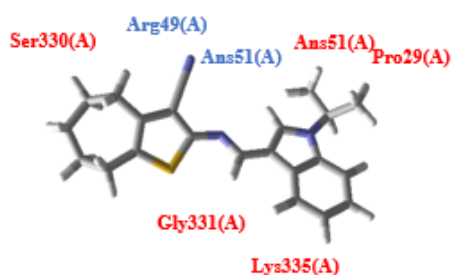
Todos os compostos citados na **Figura 4** apresentaram menor energia de ligação quando acoplados com a enzima 3QV8, exceto a molécula **88**, que interagiu com maior estabilidade com a enzima 1JDJ, no entanto, não foi visto nenhum resíduo em comum.

Na **Figura 5**, estão ilustradas todas as interações dos compostos com menor energia de ligação com a enzima 3QV8. Observa-se a presença de resíduos críticos, tais como Gly331(A) (através de ligações estéricas), Asn51(A) (através de ligações de hidrogênio) e Arg49(A) (através de ligações de hidrogênio nos compostos estudados e por meio de interações eletrostáticas no ligante), sendo as duas últimas ocorrendo sempre na região do cianeto ligado ao anel tiofênico, nos compostos indólicos.

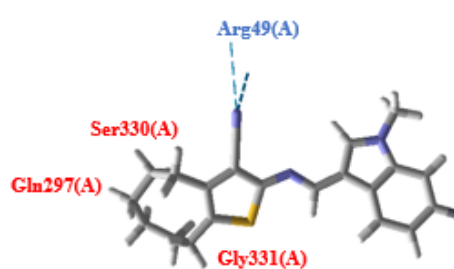
Estes compostos, mostraram também resíduos comuns entre si, tais como a Ser330(A), por meio de ligações estéricas, os quais todos os compostos apresentam. Adicionalmente, nota-se a presença de Lys335(A) e Glu300(A), que aparecem em parte dos compostos avaliados, novamente por meio de ligações estéricas.

Figura 5 - Ilustração das interações realizadas entre os compostos avaliados e o ligante da enzima 3QV8.

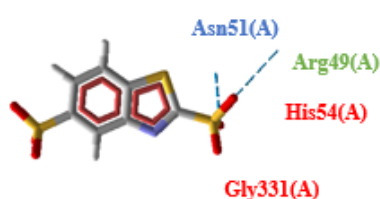




85



91



Ligante

Elaboração própria, 2020.

5.3 CHEMBENCH

Foram previstos valores de atividade através de modelos construídos (usando diferentes descritores e algoritmos) com o banco de dados de plataformas virtuais, cujas tabelas foram tratadas selecionando o CI_{50} para as formas promastigotas e amastigotas das espécies *L. infantum*, *L. braziliensis* e *L. donovani*. Os valores de corte para seleção de moléculas ativas e inativas foram obtidos a partir dos valores de pIC_{50} . A seguir, abordar-se-á os dados obtidos para cada análise realizada com as três espécies separadamente.

5.3.1 *Leishmania donovani*

5.3.1.1 Construção de modelos de predição

Primeiro, obteve-se o valor MODI_CCR proposto por Golbraikh et al. (2002) para correlacionar com a Taxa de Classificação Correta (CCR ou Q^2 - desempenho preditivo dos modelos calculado com validação cruzada), obtida no modelo de classificação QSAR (QSAR_CCR). Esse

índice permite que os pesquisadores antecipem a precisão de um modelo de classificação criado para um conjunto de dados, sejam eles modeláveis quando o valor MODI for $> 0,65$. O MODI é calculado baseado na distância euclidiana para cada conjunto de dados, ou seja, determina se um determinado composto estimado no espaço do descritor, pertence à mesma classe de atividade.

O valor MODI_CCR obtido foi de 0,92 para a forma promastigota e 0,90 para a forma amastigota de *L. donovani*. Ambos os valores foram considerados modeláveis, segundo os parâmetros de Golbraikh et al. (2002).

Foi realizada então a construção dos modelos de predição utilizando descritores CDK e DRAGON 7 separadamente, bem como o algoritmo Random Forest (RF). Obteve-se então diversos valores de Q^2 , de acordo com a alteração nas quantidades de árvores de decisão, com isso, baseados nesse valor, selecionou-se os dois melhores modelos para realizar a predição. Na **Tabela 8** está representado os valores de Q^2 para cada modelo e a quantidade de árvores de decisão selecionadas. Os valores de Q^2 sugere uma boa capacidade preditiva do modelo, visto que estão todos acima de 0.5 (WOLD; ERIKSSON, 1995; SILVA et al., 2018).

Tabela 8 - Valores para validação de modelos de acordo com o número de árvores e descritores

Forma Parasitária	Q^2	Nº de árvores de decisão	Descritor
Promastigota	0.938	100	CDK
Promastigota	0.940	1000	DRAGON
Amastigota	0.935	1000	CDK
Amastigota	0.941	1000	DRAGON

Elaboração própria, 2020.

Em análise dos parâmetros do modelo, bem como da matriz de confusão, (**Tabela 9**) utilizada para avaliar o desempenho do algoritmo (SANTOS-GARCIA, 2018) observou-se os valores de especificidade da **Equação 8** e sensibilidade da **Equação 9**, estatísticas para medir a significância da análise (TRIPATHY et al., 2016). Deste modo, verificou-se que para todos os modelos, a especificidade apresentou resultados mais elevados do que a sensibilidade, sendo o primeiro representando a taxa de acerto de verdadeiros negativos e o segundo de verdadeiros positivos. Um outro parâmetro avaliado foi o da acurácia, que vai determinar a proporção do que é avaliado corretamente (BARROS, 2017), levando em consideração o valor total da **Equação 10**, estando acima de 0.90 para todos os modelos construídos, aumentando a confiabilidade do modelo, o coeficiente de correlação de Matthews (MCC) da **Equação 11**, a qual realiza uma avaliação geral da matriz de confusão, ou seja, correlaciona-se como classificações binárias observadas e preditivas, em que os valores variam de -1 a +1, onde se observa que os valores apresentados na tabela para esta espécie, é

próximo a +1 (os resultados +1 são considerados uma previsão perfeita) (MATTHEWS , 1975) e a curva ROC (Receiver Operating Characteristics), usada para demonstrar o desempenho bidimensional de um modelo, onde é possível verificar o limiar entre a correção e as taxas de erro dos classificadores. Em geral, os modelos são considerados conservadores quando representados próximos ao eixo Y, o que significa que poucos erros de falsos positivos são verificados (SILVA, 2006), de modo que observou-se que as curvas formuladas para os modelos das espécies em questão são compatíveis com os modelos conservadores, como mostra o **Gráfico 1**. Com base em todas as evidências, podemos inferir a confiabilidade dos modelos construídos.

Equação 9 - Especificidade (Matriz de confusão)

Equação 10 - Sensibilidade (Matriz de confusão)

Equação 11 - Acurácia (Matriz de confusão)

Equação 12 - Coeficiente de correlação de Matthews (MCC)

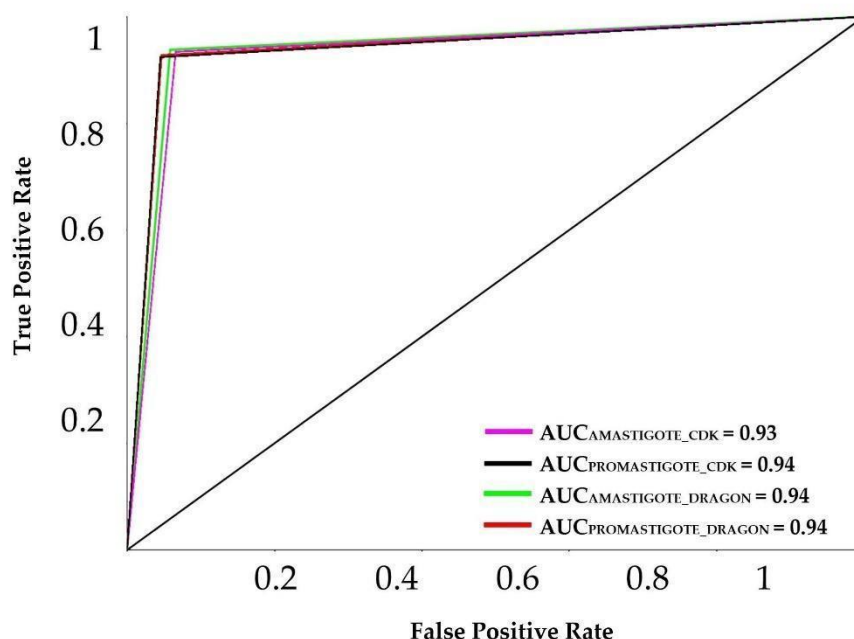
$$\begin{aligned}
 \text{(8) Especificidade} &= \frac{TN}{TN + FP} & \text{(9) Sensibilidade} &= \frac{TP}{TP + FN} \\
 \text{(10) Acurácia} &= \frac{TP + TN}{TP + TN + FP + FN} & \text{(11) MCC} &= \frac{TP * TN - FP * FN}{\sqrt{(TP+FP)(TP+FN)(TN+FP)(TN+FN)}}
 \end{aligned}$$

*Especificidade, Sensibilidade, Acurácia
Elaboração própria, 2020.

Tabela 9 - Parâmetros dos resultados obtidos nos modelos *Random Forest* de *L. donovani*

Modelos/ descritores	NPV	PPV	Espec.	Sensib.	Acur.	MCC
Promastigota/CDK	0,934	0,937	0,955	0,924	0,941	0,878
Promastigota/DRAGON	0,937	0,937	0,954	0,928	0,942	0,889
Amastigota/ CDK	0,924	0,943	0,935	0,934	0,935	0,886
Amastigota/ DRAGON	0,928	0,950	0,942	0,938	0,940	0,886

Elaboração própria, 2020.

Gráfico 1 - Curva ROC of *L. donovani*

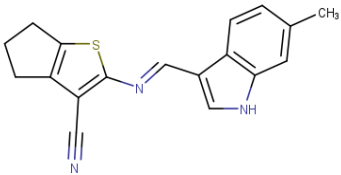
Elaboração própria, 2020.

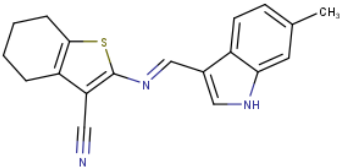
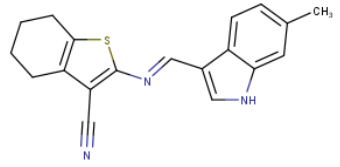
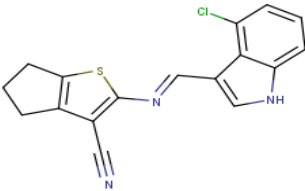
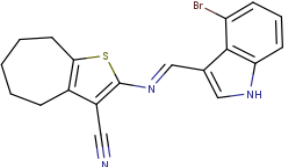
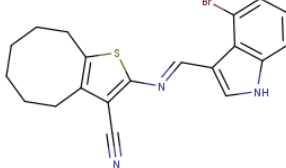
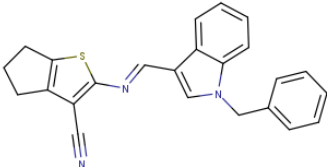
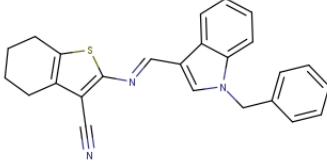
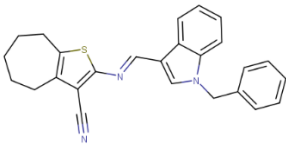
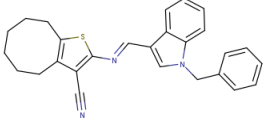
5.3.1.2 Predição

Além do algoritmo RF, utilizou-se o MuDRA. Abordar-se-á separadamente os resultados obtidos. A predição com o RF foi realizada utilizando o domínio de aplicabilidade 3σ , sendo este baseado nas distâncias Euclidianas, usado para identificar compostos no conjunto de testes com predições não confiáveis caso os valores forem maiores que $APD = d + Z\sigma$, sendo d a distância Euclidiana média e σ , o desvio padrão do conjunto de amostras no conjunto de treino (possuindo valores médios de distância Euclidiana mais baixos) (SCOTTI et al., 2016).

Para os modelos utilizando o RF, obteve-se o valor de predição acima de 0.5 apenas para a forma amastigota. Na **Tabela 10** demonstrou-se apenas os compostos que se apresentaram dentro do limite mínimo considerado e citado anteriormente.

Tabela 10 - Resultados de predição para formas amastigotas de *L. donovani**

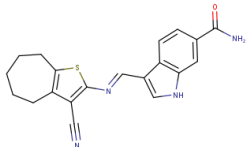
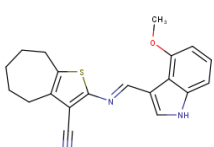
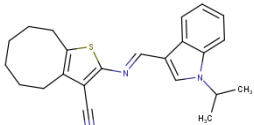
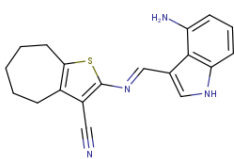
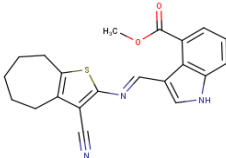
ID	Estruturas	CDK	DRAGON
4		0.6	1

10		0.6	1
27		0.8	1
28		0.6	1
37		0.6	1
42		1	0.8
45		0.8	1
57		0.8	1
69		0.6	1
81		1	1

*valores com predição acima de 0,5.
Elaboração própria, 2020.

A predição realizada no MuDRA apresentou valores acima de 0.5 nas duas formas parasitárias. Foi realizada uma estatística para acima de 0.7, como demonstrado na **Tabela 11**.

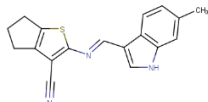
Tabela 11 - Resultados obtidos pelo MuDRA para as duas formas parasitárias de *L. donovani*

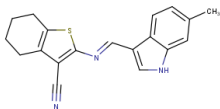
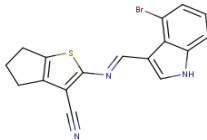
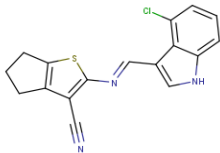
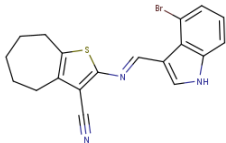
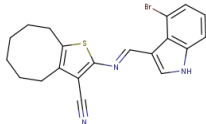
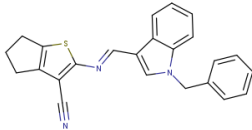
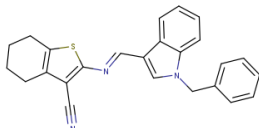
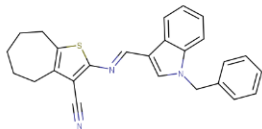
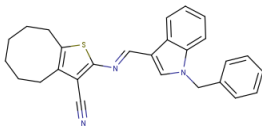
Promastigotas			Amastigotas		
ID	Estruturas	>0.7	ID	Estruturas	>0.7
35		1	13		1
85		1	36		1
			39		1

Elaboração própria, 2020.

Realizando uma avaliação entre todos os resultados de predição obtidos, destacam-se algumas estruturas que se repetem nas três análises expostas (RF (CDK e DRAGON) e MuDRA). Vale ressaltar que, os resultados mais promissores foram verificados apenas na forma amastigota (**Tabela 12**), selecionadas a partir desses dados. Observou-se que das moléculas selecionadas, o anel de 5 membros acoplado ao tiofeno, é o padrão que mais se repete, além dos radicais ligados ao anel indólico 4-bromo, 6-metil, 1-benzil. Estudos realizados por Ashok et al. (2017) com alguns derivados indólicos, demonstraram a atividade destes contra a espécie *L. donovani*, com EC₅₀ chegando a 0,91 µM para promastigota, 0,90 µM para amastigota axênica e 1.3 µM para amastigota intracelular. Demonstrando a eficácia de compostos com esse núcleo indólico em sua estrutura.

Tabela 12 - Moléculas com resultados satisfatórios em comum com as três análises realizadas para *L. donovani**

ID	Estrutura
4	

10	
27	
28	
37	
42	
45	
57	
69	
81	

*média das três análises > 0,7.
Elaboração própria, 2020.

5.3.2 *Leishmania braziliensis*

5.3.2.1 Construção dos modelos de predição

Da mesma forma que a espécie anterior, obteve-se o valor de MODI_CCR (Golbraikh et al., 2014) de forma que o MODI > 0,65 implica que o conjunto de dados subjacente é modelável.

O MODI_CCR foi obtido nesta análise apenas para a forma promastigota, visto que não conseguiu-se dados suficientes no ChemBl e PubChem para construir um modelo com a forma amastigota. Assim sendo, os dados para promastigota foram considerados modeláveis de acordo com Golbraikh et al. (2014).

Da mesma forma, realizou-se a construção dos modelos de predição utilizando descritores CDK e DRAGON 7 separadamente e utilizando o algoritmo *Random Forest* (RF). Os maiores valores de Q^2 para os modelos com cada classe de descritor e diferentes números de árvores de decisão, (**Tabela 13**) serviram como base para a escolha do modelo que foi utilizado para a predição dos derivados tiofênicos indólicos, de acordo com a alteração nas quantidades de árvores de decisão. Os valores obtidos de Q^2 estão acima de 0.5, o que nos indica uma boa capacidade preditiva (WOLD; ERIKSSON, 1975; SANTOS-GARCIA et al., 2018).

Tabela 13 - Valores para validação de modelos de acordo com o número de árvores e descritores.

Forma Parasitária	Q^2	Nº de árvores de decisão	Descritor
Promastigota	0.860	100	CDK
Promastigota	0.852	100	DRAGON

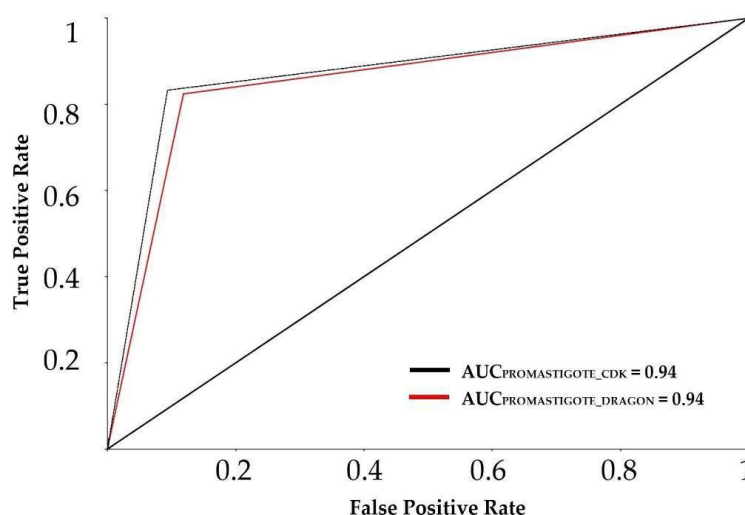
Elaboração própria, 2020.

De forma similar à espécie anterior, foi feita uma análise dos parâmetros do modelo (**Tabela 14**) de forma a avaliar o desempenho do algoritmo (Tripathy et al., 2016), como já descrito anteriormente. Deste modo, verificou-se que para os dois modelos, a especificidade (**Equação 8**) (taxa de acerto do verdadeiro negativo) apresentou resultados mais elevados do que a sensibilidade (**Equação 9**) (taxa de acerto do verdadeiro positivo). A acurácia (**Equação 10**) (BARROS, 2017) foi de 0.877, aumentando a confiabilidade do modelo. O MCC obtido (**Equação 11**) ficou acima de 0,7, próximo a +1 (MATTHEWS, 1975) e a área sob a curva ROC (SILVA, 2006), acima de 0,8 para ambos os modelos (**Gráfico 2**). Todos esses resultados nos fornecem confiabilidade para o modelo.

Tabela 14 - Parâmetros dos resultados obtidos nos modelos Random Forest de *L. donovani*

Modelos/ descritores	NPV	PPV	Espec.	Sensib.	Acur.	MCC
Promastigota/CDK	0,890	0,857	0,907	0,833	0,870	0,775
Promastigota/DRAGON	0,882	0,824	0,882	0,824	0,853	0,745

*Especificidade, Sensibilidade, Acurácia
Elaboração própria, 2020.

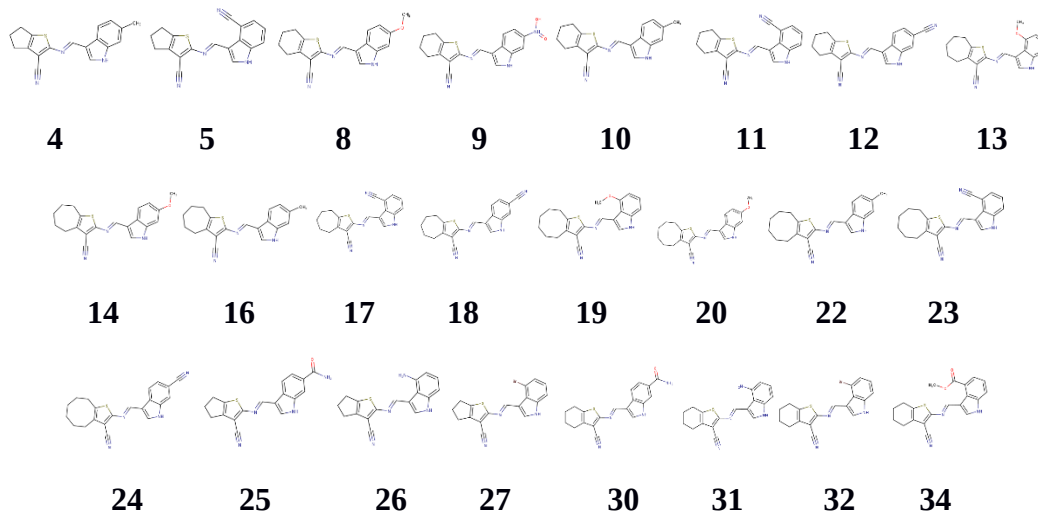
Gráfico 2 - Curva ROC de *L. braziliensis*

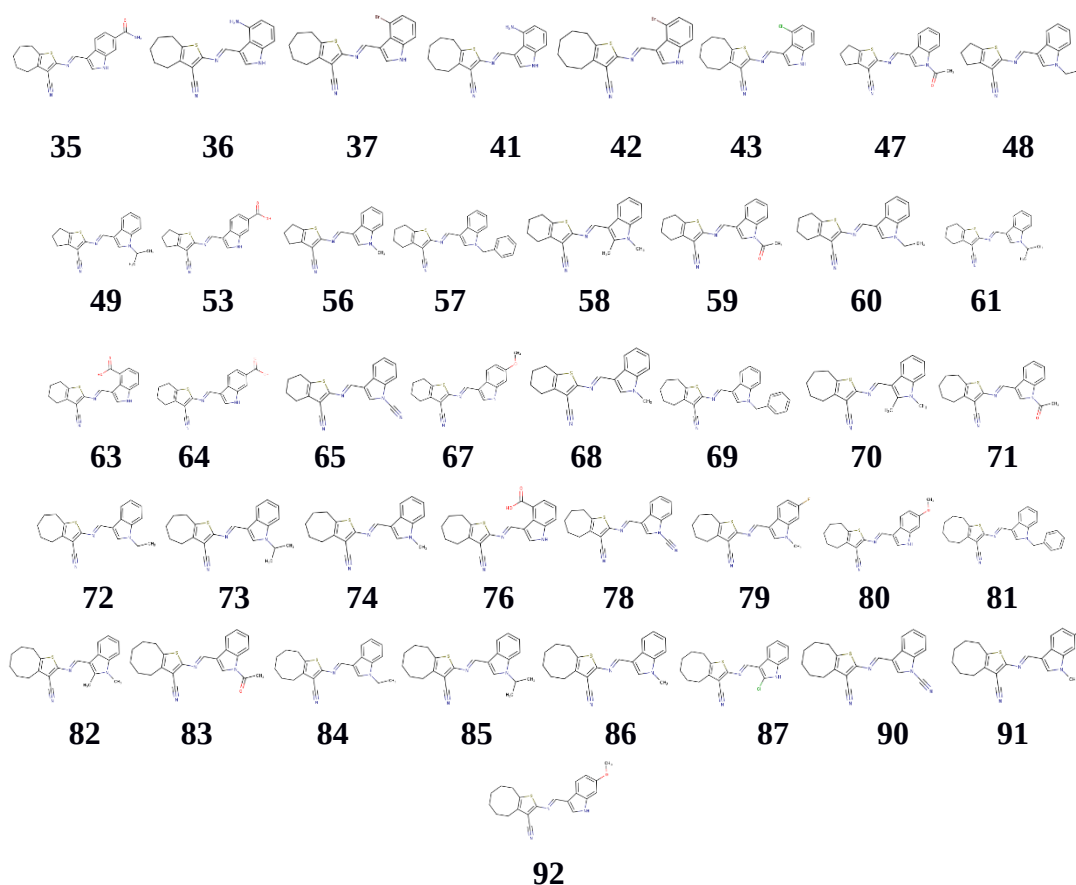
Elaboração própria, 2020.

5.3.2.2 Predição

De forma similar, utilizou-se a RF, como algoritmo e o MuDRA. Sendo a predição com o RF utilizando o domínio de aplicabilidade 3σ , este baseado nas distâncias Euclidianas (SCOTTI, et al., 2016). Para os modelos utilizando o RF, não obteve-se nenhum valor de predição acima de 0,5 para a forma parasitária analisada, bem como a *L. donovani*.

O oposto foi verificado na análise MuDRA. Fez-se uma estatística para valores acima de 0,7, assim, selecionou-se 65 estruturas com valores iguais a 1 (**Figura 6**).

Figura 6 - Dados obtidos MuDRA para *L. braziliensis*

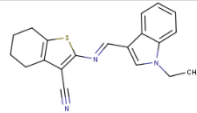
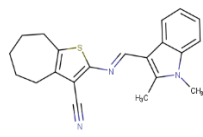
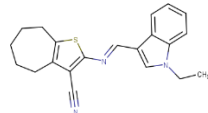
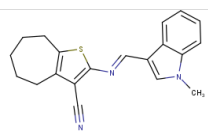
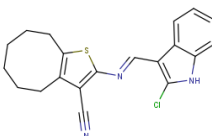


Elaboração própria, 2020.

Em uma observação da média das três análises realizadas, destacou-se algumas estruturas que apresentaram média de 0.5 para a predição (**Tabela 15**). Nota-se que há uma maior quantidade de moléculas com 7 e 8 membros, e o anel indólico aparece com mais frequência com os radicais 4-bromo e 1-etil, além de outros radicais, como o cloro, porém em diferentes posições.

Tabela 15 - Moléculas com resultados satisfatórios em comum com as três análises realizadas para promastigotas de *L. braziliensis*

ID	Estrutura
37	
42	
43	

60	
70	
72	
74	
87	

* Média das três análises > 0.5.

Elaboração própria, 2020.

5.3.3 *Leishmania infantum*

5.3.3.1. Construção de modelos de predição

O valor do MODI_CCR foi obtido para as duas formas parasitárias, sendo para a forma promastigota, o valor de 0.74 e para a forma amastigota, 0.80, estando dentro da faixa considerada para dados modeláveis, de acordo com Golbraikh et al. (2014).

Os modelos de predição foram construídos utilizando descritores da classe CDK e *DRAGON* 7 e utilizando o algoritmo RF. Após alteração nas quantidades de árvores de decisão, obteve-se então diversos valores de Q^2 . Logo, com base nesse valor, selecionou-se os dois melhores modelos para realizar a predição. Na **Tabela 16**, representou-se os valores de Q^2 para cada modelo e a quantidade árvores de decisão selecionadas, de forma que, os valores de Q^2 passam a nos sugerir uma boa capacidade preditiva do modelo, visto que estão todos acima de 0.5 (Wold; Eriksson, 1995; SANTOS-GARCIA et al., 2018).

Tabela 16 - Valores para validação dos modelos

Forma Parasitária	Q^2	Nº de árvores de decisão	Descritor
Promastigota	0.743	100	CDK
Promastigota	0.761	125	DRAGON

Amastigota	0.682	125	CDK
Amastigota	0.694	100	DRAGON

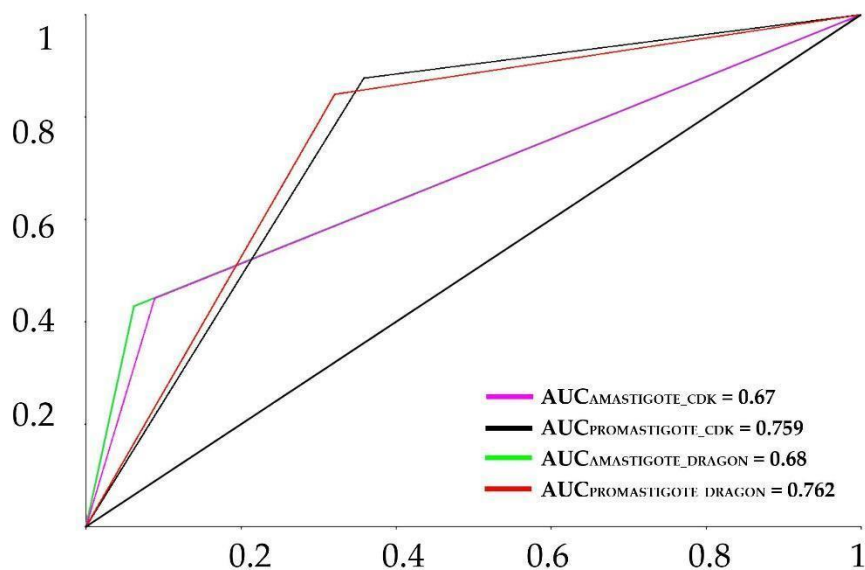
Elaboração própria, 2020.

De forma a obter valores de significância da análise (TRIPATHY et al., 2016), observou-se a especificidade (**Equação 8**) e sensibilidade da (**Equação 9**) na matriz de confusão (**Tabela 17**), utilizada na avaliação do desempenho do algoritmo. Verificou-se que para todos os modelos de amastigota, a especificidade apresentou resultados mais elevados do que a sensibilidade, o mesmo não foi visto nos modelos de promastigota. Além destes parâmetros, avaliou-se a acurácia, que vem de forma a determinar a proporção do que é avaliado corretamente (TRIPATHY et al., 2016), levando em consideração o valor total da **Equação 10** (BARROS, 2017), estando acima de 0.70 para todos os modelos construídos, aumentando a confiabilidade do modelo. O CCM da **Equação 11** obtido foi baixo em comparação com as espécies anteriores, mas permaneceu próximo de 0,6, ou seja, mais próximo de +1 (MATTHEWS, 1975). Da mesma forma, observou-se a curva ROC (SILVA, 2006), onde é possível verificar que os modelos amastigotas apresentaram área da curva próxima a 0,7, enquanto os modelos promastigotas apresentaram área acima de 0,8, atendendo aos requisitos necessários para determinar a confiabilidade do modelo (**Gráfico 3**).

Tabela 17 - Parâmetros dos resultados obtidos nos modelos Random Forest de *L. infantum*

Modelos/ descritores	NPV	PPV	Espec.	Sensib.	Acur.	MCC
Promastigota/CDK	0,928	0,964	0,826	0,986	0,906	0,639
Promastigota/DRAGON	0,960	0,977	0,890	0,992	0,941	0,626
Amastigota/ CDK	0,959	0,983	0,983	0,958	0,971	0,594
Amastigota/ DRAGON	0,958	0,966	0,966	0,958	0,962	0,629

Elaboração própria, 2020.

Gráfico 3 - Curva ROC of *L. infantum*

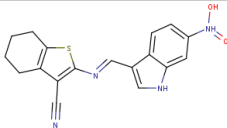
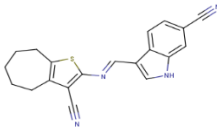
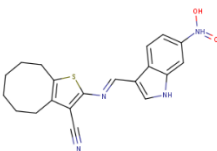
Elaboração própria, 2020.

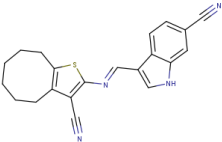
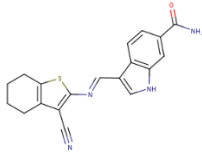
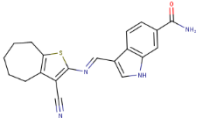
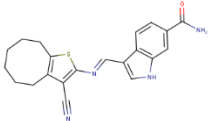
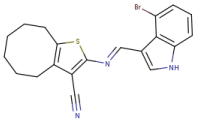
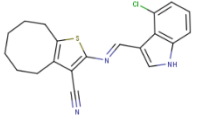
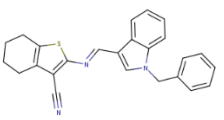
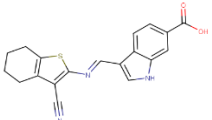
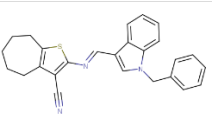
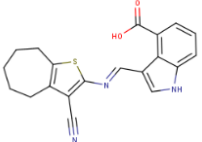
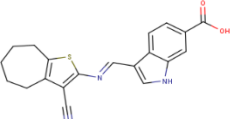
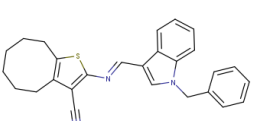
5.3.3.2 Predição

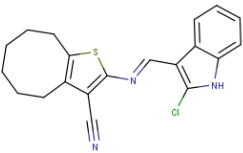
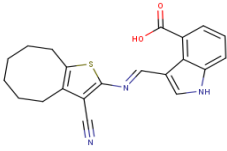
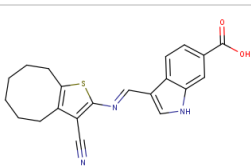
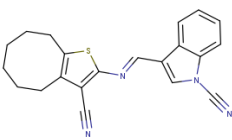
A predição com o RF foi realizada utilizando o domínio de aplicabilidade 3σ , baseado nas distâncias Euclidianas segundo Scotti et al. (2016).

Para os modelos utilizando o RF, obteve-se o valor de predição acima de 0.5 apenas para a forma promastigota e com os descritores CDK. Logo, na **Tabela 18**, está representado apenas os compostos que se apresentaram dentro do limite mínimo considerado e citado anteriormente.

Tabela 18 - Resultados da predição para formas promastigotas de *L. infantum* *

ID	Estrutura	CDK
9		0.6
18		0.6
21		0.8

24		0.8
30		0.8
35		1
40		1
42		0.6
43		0.6
57		0.6
64		0.6
69		0.6
76		0.6
77		1
81		0.6

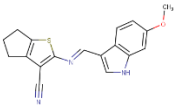
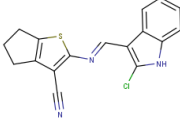
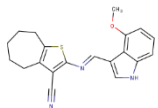
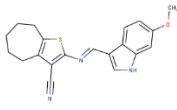
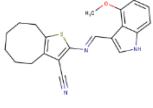
87		0.6
88		1
89		1
90		0.8

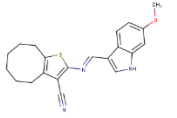
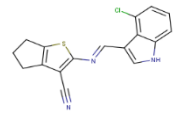
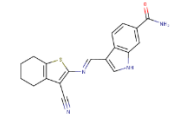
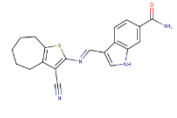
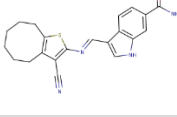
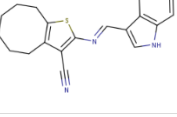
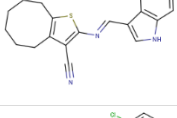
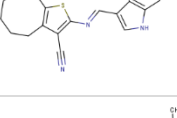
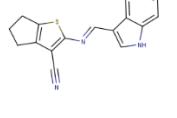
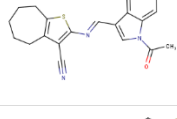
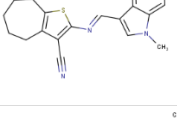
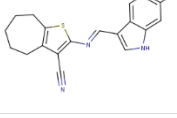
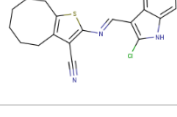
*valores de predição acima de 0,5.

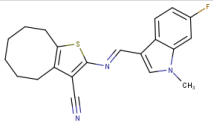
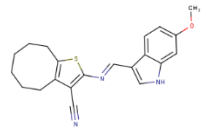
Elaboração própria, 2020.

Na predição realizada no MuDRA, obtivemos valores acima de 0.5 para as duas formas parasitárias. Desta forma, na **Tabela 19** a seguir está representada a estatística para valores acima de 0.5 e acima de 0.7.

Tabela 19 - Dados obtidos no MuDRA para as duas formas parasitárias de *L. infantum*

Promastigota			Amastigota		
ID	Estrutura	>0.7	ID	Estrutura	>0.7
2		1	50		1
13		1			
14		1			
19		1			

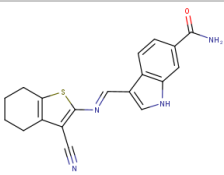
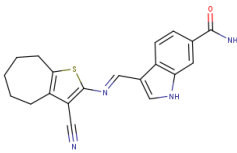
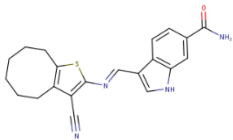
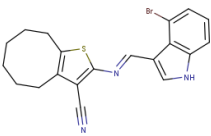
20		1	
28		1	
30		1	
35		1	
40		1	
41		1	
42		1	
43		1	
55		1	
71		1	
79		1	
80		1	
87		1	

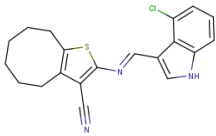
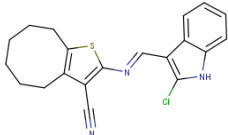
91		1	
92		1	

Elaboração própria, 2020.

Em avaliação através da média dos resultados de predição obtidos, destacam-se algumas estruturas que se repetem nas análises expostas (RF (CDK e DRAGON) e MuDRA). Vale ressaltar, que os resultados mais promissores foram verificados apenas na forma promastigota, sendo as moléculas representadas na **Tabela 20**. Observou-se que, das moléculas selecionadas, há maior predominância de moléculas com anel de 8 membros acoplado ao tiofeno, além das amidas como radicais ligados ao anel indólico. Estudos realizados com derivados indólicos frente a espécie *L. infantum* (ASHOK et al., 2019), demonstraram a eficácia de compostos com o núcleo indólico em sua estrutura, da atividade com CE₅₀ chegando a 1,59 µM para promastigota e 1,54 µM para amastigota axênica.

Tabela 20 - Moléculas em comum com as três análises realizadas para a forma promastigota de *L. infantum**

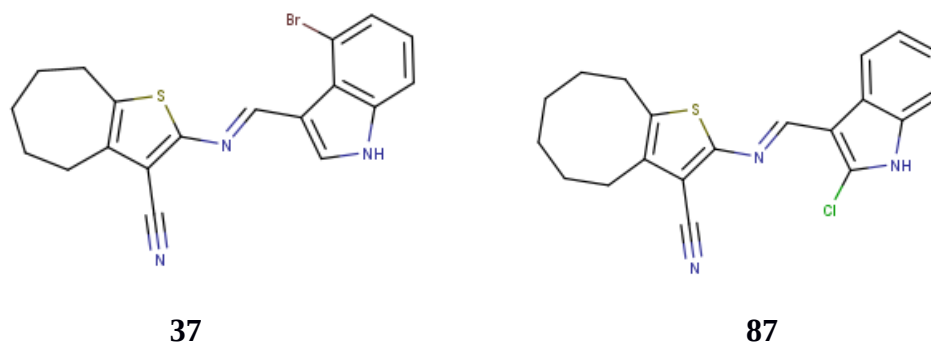
ID	Estrutura
30	
35	
40	
42	

43	
87	

*médias das três análises > 0.7.
Elaboração própria, 2020.

É possível destacar dois compostos em comum com duas espécies, são eles o **87** (*L. infantum* e *L. brazileinsis*) e **37** (*L. braziliensis* e *L. donovani*) (**Figura 7**), o primeiro com um anel de 8 membros acoplado ao tiofeno e um radical 2-cloro ao anel indólico, já o segundo com um anel de 7 membros acoplado ao tiofeno e um 4-bromo ao anel indólico.

Figura 7 - Estrutura dos compostos 37 e 87, observados em comum entre duas espécies avaliadas



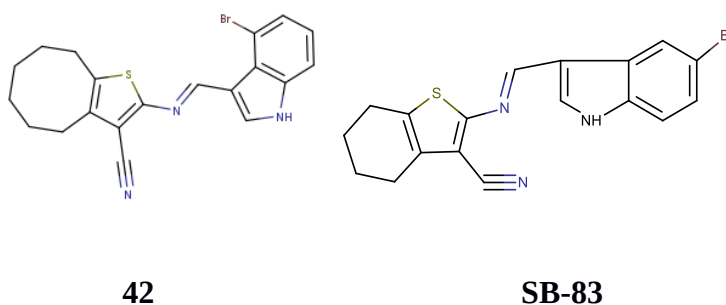
Elaboração própria, 2020.

A estrutura **42** (**Figura 8**) é a única que se repete na análise preditiva das três espécies. Observou-se que a estrutura **42** possui um anel de 8 membros e um substituinte no anel indólico acoplado ao 2-aminotiofeno (radical 4-bromo), sugerindo uma possível potencialidade neste radical.

Estes resultados corroboram com estudos de Rodrigues et al. (2015), que demonstraram atividade anti-*Leishmania* de derivado tiofenicos *in vitro* contra a espécie *L. amazonensis*, sendo o composto mais promissor contendo uma porção indólica, o SB -83, com CI_{50} de 3,37 $\mu\text{g/ml}$. Esta substância apresenta semelhanças com o composto **42**, visto que o que os diferencia é a quantidade de carbonos no anel acoplado ao tiofeno e a posição do radical bromo no anel indólico (**Figura 8**). Rodrigues et al. (2018), realizou estudos *in vivo* com o SB-83, de forma a avaliar toxicidade aguda, genotoxicidade, eficácia oral em modelo murino, onde se determinou a DL_{50} de 2500 mg/kg por via oral, com poucas alterações comportamentais em camundongos. Além disso, foi realizado ensaios biológicos *in vitro* com uma cepa resistente da espécie citada. Nenhuma diferença de atividade foi

verificada entre as cepas resistentes e sensíveis, indicando o potencial anti-*Leishmania* desses derivados e a necessidade de estudos biológicos com os novos derivados sugeridos neste estudo.

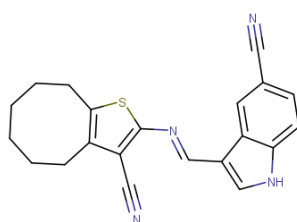
Figura 8 - Estrutura do composto **42** comparado com o SB-83



Fonte: Rodrigues et al. (2015; 2018).

Além desses estudos, Félix et al. (2016), também verificaram atividade anti-*Leishmania in vitro* frente à *L. amazonensis*, de derivados 2-aminotiofenos indólicos, com CI_{50} chegando a até 2,07 $\mu\text{g/ml}$ para o composto TN8-7 (**Figura 9**) que se diferencia do composto **42**, destacadas neste estudo, devido ao radical 5-CN acoplado ao anel indólico. Desta forma, observou-se mais um referencial que comprova a potencialidade dos derivados 2-amino tiofenos indólicos.

Figura 9 - Estrutura do TN8-7 (2016)



Fonte: Félix et al., 2016.

Após a realização das análises computacionais descritas acima, selecionou-se por meio de consenso das duas técnicas utilizadas, seis compostos, sendo eles, **19**, **28**, **42**, **43**, **84** e **91** (**Esquema 2**) para a produção sintética.

5.4 SÍNTESE DOS NOVOS DERIVADOS

Através de metodologias descritas por nosso grupo, foi realizada a síntese dos derivados do híbrido 2-[(indolil)metileno-amino]-cicloalquil[b]tiofeno-3-carbonitrila (**19**, **28**, **42**, **43**, **84** e **91**)

(MENDONÇA JUNIOR et al., 2011; SOUZA et al., 2012) (**Esquema 2**). Em resumo, derivados de 2-amino-cicloalca[b]tiofeno-3-carbonitrila foram obtidos usando o procedimento de Gewald (HUANG & DOMLING, 2011) e reagiram com aldeídos de indol em meio etanólico fornecendo os compostos alvo.

Todos os compostos foram obtidos com rendimentos satisfatórios (de 41,3 a 74,6%) (**Tabela 21**) e todas as estruturas químicas foram caracterizadas com base em suas características físico-químicas, confirmadas por dados espectrais (^1H RMN, ^{13}C RMN e HRMS - **ANEXO II**), de forma a confirmar todas as estruturas planejadas.

Tabela 21 - Características físico-químicas e rendimentos dos compostos

Composto	F.M.	MM	Rf*	APARÊNCIA	RENDIMENTO
19	$\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{ON}_3\text{S}$	364.4	0,71	Amarelo	41,3%
28	$\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{N}_3\text{S}\text{Cl}$	326.8	0,46	Laranja	58,9%
42	$\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{N}_3\text{SBr}$	412.3	0,60	Amarelo	74,6%
43	$\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{N}_3\text{S}\text{Cl}$	368.8	0,56	Amarelo	64,3%
84	$\text{C}_{22}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{S}$	362,5	0,6	Amarelo	50,3%
91	$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{N}_3\text{SF}$	366,4	0,42	Amarelo	71,4%

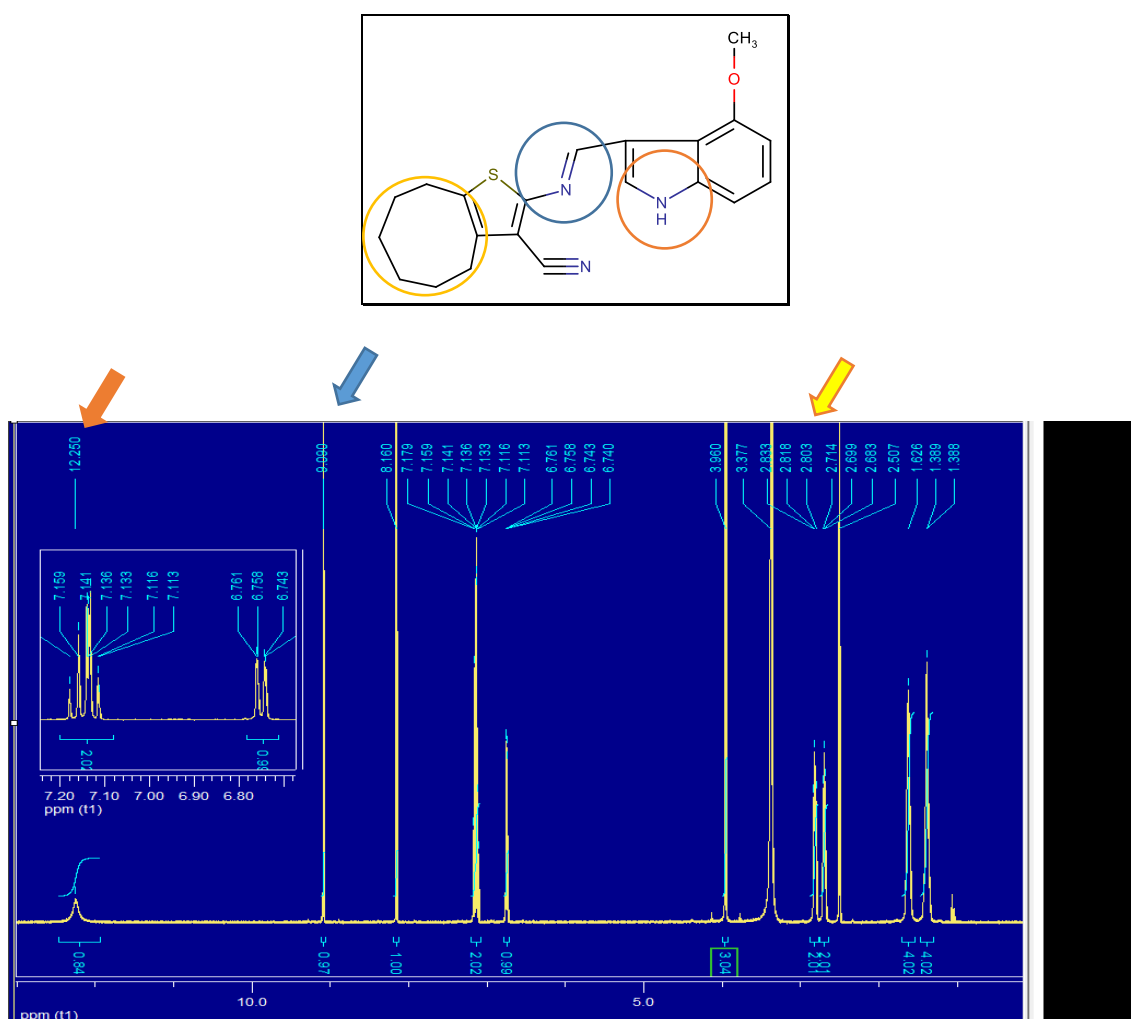
Elaboração própria, 2020.

A literatura relata que nos espectros de RMN ^1H , espera-se que os hidrogênios pertencentes ao anel ciclooctano, apareçam como uma série de sinais (quatro grupos), com deslocamentos químicos entre 1,78–2,80 ppm (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2006). Para os nossos derivados cicloocta[b]tiofeno (compostos **19**, **42**, **43**, **84** e **91**), os prótons e carbonos de cicloalcano apareceram a 1,37-2,84 ppm em ^1H RMN e em 25,05-31,78 ppm em ^{13}C RMN. Já para os derivados de ciclopenta[b]tiofeno (**28**), os hidrogênios de metileno apareceram em 2,30-2,85 ppm e os carbonos em 27,21-30,10 ppm.

O surgimento do sinal imina ($-\text{CH}=\text{N}-$) em todos os compostos, demonstra o sucesso do acoplamento farmacóforo (2-aminotiofeno e indol). Os sinais de prótons $-\text{CH}=\text{N}-$ foram observados como singleto na região de 9,09-9,48 ppm para os derivados de indol não-*N*-alquilados (compostos **19** (**Figura 10**), **28**, **42** e **43**). Uma frequência mais alta do que a esperada em carbono sp^2 (entre 4,5 a 7 ppm), que pode ser justificada por meio do fenômeno anisotropia diamagnética, que vem a provocar desvios químicos de maior grandeza (GONSALVES; MELO, 2007), bem como ao fato dessa insaturação encontrar-se conjugada ao sistema aromático proveniente do aldeído. O pico do H imínico dos derivados indol *N*-alquilados (compostos **91** e **84**, respectivamente), aparece em 8,66 e 8,69 ppm (campo ligeiramente mais baixo).

Conforme Silverstein et al. (2006), os hidrogênios dos aromáticos e heteroaromáticos são identificados na região 6,0 e 9,0 ppm, corroborando com os picos observados nos espectros. Além disso, na região entre 12,25 e 12,61 ppm, é possível notar um sinal mais desprotegido, um singlete largo associado ao próton N-H do anel indol. Os sinais de RMN mais protegidos foram atribuídos a prótons e carbonos de cicloalcano.

Figura 10 - Espectro de ^1H RMN do composto **19**.



Fonte: Félix et al., 2020.

Nas **Tabelas 22** e **23**, estão apresentados todos os deslocamentos químicos referentes aos espectros de ^1H RMN, ^{13}C RMN dos novos derivados indólicos sintetizados, bem como o valor de massa determinado por HRMS.

Tabela 22 - Compostos sintetizados e seus respectivos deslocamentos químicos (δ). **^1H RMN**

Compostos	Ciclooctano	Aromático	NH	Substituinte
19	1,38 (m, 4H); 1,62 (m, 4H); 2,68-2,71 (m, 2H); 2,80-2,83 (m, 2H).	6,75 (dd, 1H, $J = 7.2$, 1.2 Hz); 7,11-7,17 (m, 2H); 8,16 (s, 1H); 9,09 (s, 1H),	12,25 (sl, 1H)	3,96 (s, 3H, OCH ₃)
28	2,30-2,36 (m, 2H); 2,74 (t, 2H, $J = 6,0$ Hz), 2,85 (t, 2H, $J = 5.2$ Hz)	7,20 (t, 1H, $J = 6,4$ Hz); 7,24 (dd, 1H, $J = 6.0$, 0.8 Hz); 7,51 (dd, 1H, $J = 6,0$, 0,8 Hz); 8,34 (s, 1H); 9,29 (s, 1H),	12,49 (bs, 1H, NH).	-
42	1,37 (m, 4H); 1,61 (m, 4H); 2,68 (m, 2H); 2,79 (m, 2H).	7,15 (t, 1H, $J = 8,0\text{Hz}$); 7,43 (d, 1H, $J = 7,6\text{Hz}$); 7,59 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz); 8,38 (s, 1H); 9,48 (s, 1H).	12,57 (sl, 1H, NH).	-
43	1,38-1,38 (m, 4H); 1,61-1,62 (m, 4H); 2,69-2,72 (m, 2H); 2,81-2,84 (m, 2H).	7,21 (t, 1H, $J = 8,0\text{Hz}$); 7,28 (dd, 1H, $J = 7,6$; 1,2Hz); 7,54 (dd, 1H, $J = 8,0$, 1,2Hz); 8,38 (s, 1H); 9,31 (d, 1H, $J = 0,8$ Hz).	12,61 (sl, 1H, NH).	-
84	1,39 (m, 4H); 1,43 (t, 3H, $J = 7,2$ Hz); 1,63 (m, 4H); 2,69-2,72 (m, 2H); 2,80-2,83 (m, 2H); 4,31 (q, 2H, $J = 7,2\text{Hz}$).	7,29 (dt, 1H, $J = 7,2$; 1,2 Hz); 7,34 (dt, 1H, $J = 7,2$, 1,2Hz); 7,64 (d, 1H, $J = 8,0\text{Hz}$)	8,23 (s, 1H); 8,41 (dd, 1H, $J = 7,2$, 1,2Hz); 8,69 (s, 1H)	-
91	1,37-1,38 (m, 4H); 1,61-1,62 (m, 4H); 2,68-2,71 (m, 2H); 2,79-2,81 (m, 2H)	7,17 (dt, 1H, $J = 7,2$, 2.0Hz); 7,59 (dd, 1H, $J = 7,6$, 7,6 Hz)	-	3,88 (s, 3H, CH ₃)

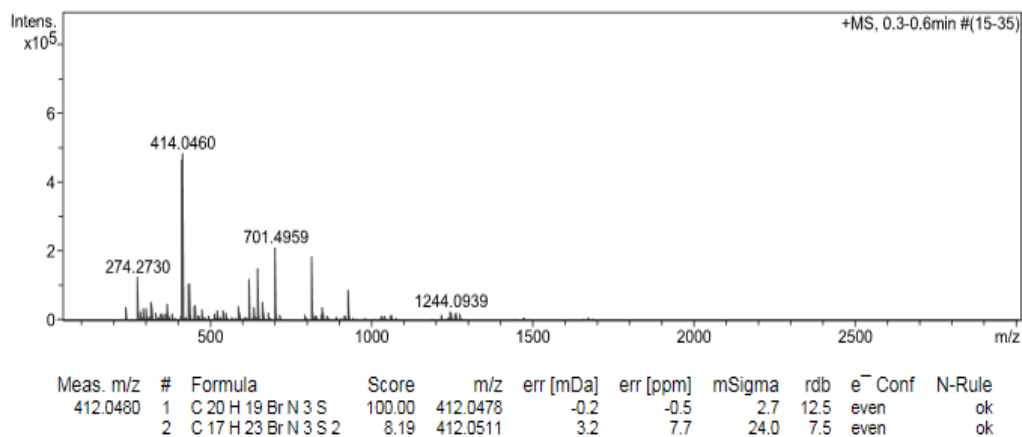
Elaboração própria, 2020.

Tabela 23 - Compostos sintetizados e seus respectivos deslocamentos químicos (δ) ^{13}C RMN

Composto	Deslocamentos
19	25,05; 25,29; 26,45; 29,65; 31,27; 55,48; 102,18; 103,01; 106,05; 113,60; 115,26; 115,74; 123,60; 128,25; 131,87; 136,85; 138,05; 153,90; 156,09; 162,12.
28	27,21; 28,19; 30,10; 98,37; 109,98; 112,66; 113,77; 115,47; 122,83; 123,83; 124,91; 131,72; 135,21; 138,81; 143,87; 154,07; 168,09.
42	25,47; 25,72; 25,75; 26,91; 30,07; 31,68; 104,09; 112,87; 113,20; 115,53; 124,14; 124,82; 126,22; 131,79; 132,84; 137,47; 138,79; 154,51; 162,25
43	25,48; 25,73; 25,77; 26,89; 30,09; 31,70; 104,06; 112,76; 113,73; 115,54; 122,87; 123,32; 123,90; 124,89; 131,71; 123,94; 137,49; 138,81; 154,88; 162,10.
84	15,53; 25,48; 25,74; 26,96; 30,13; 31,78; 41,65; 104,11; 111,40; 113,90; 115,77; 122,58; 122,70; 124,04; 125,65; 132,34; 137,00; 137,63; 138,65; 155,37; 162,87.
91	25,48; 25,76; 25,79; 26,99; 30,07; 31,72; 34,06; 104,49; 107,44; 112,77; 113,57; 115,58; 126,00; 132,62; 135,22; 137,00; 140,96; 154,99; 158,28; 160,15; 162,42.

Elaboração própria, 2020.

O HRMS de todos os compostos, apresentou picos de íons moleculares ($M + H$)⁺ e foram confirmadas suas fórmulas moleculares. Para o composto **42**, observou-se o pico $[M + 2]$ ⁺ com intensidade equivalente aos picos de íons moleculares, referente ao isótopo mais pesado do átomo de bromo (**Figura 11**).

Figura 11 - HRMS do composto 42

Elaboração própria, 2020.

5.5 AVALIAÇÃO BIOLÓGICA

Os ensaios biológicos foram realizados em parceria com o prof. Dr. Klinger Antonio da Franca Rodrigues, na Universidade Federal do Piauí. Desta forma, na **Tabela 25**, estão expostos os resultados da avaliação desses derivados híbridos de tiofeno-indol, comparados com os medicamentos de referência antimoniatos de meglumina e anfotericina B, frente às formas promastigotas e amastigotas axênicas de *L. amazonensis*, bem como os efeitos citotóxicos contra macrófagos.

Tabela 24 - Atividade biológica, efeitos citotóxicos contra macrófagos e índice de seletividade dos novos derivados tiofênicos indólicos

Compostos	Citotoxicidade	Atividade anti-Leishmania				
	Macrófagos	Promastigotas		Amastigotas		
	CC ₅₀	CI ₅₀	IS _m	CI ₅₀	IS _m	
19	67.50	2.16	31.25	0.90	75.00	
28	239.50	>50	>4.79	>50	>4.79	
42	89.34	2.97	30.08	1.71	52.24	
43	>800	>50	>16	>50	>16	
84	322.60	29.30	11.00	30.67	10.51	
91	260.13	17.41	19.94	21.20	12.27	
Sb⁵⁺	1035*	25740*	0.04	1017*	1.01	
AmpB	0.18	1.05	0.17	0.23	0.78	

*CC₅₀, CH₅₀ e CI₅₀ valores em µM. IS_m (índice de seletividade) = CC₅₀/CI₅₀.

Sb⁵⁺ = Antimoniato de Meglumina, AmpB = Anfotericina B.

Elaboração própria, 2020.

Observando os valores na **Tabela 25**, verifica-se que dos seis compostos avaliados, quatro se mostraram ativos e com atividade anti-*Leishmania* em diferentes concentrações (**19, 42, 84, 91**) e dois (**28 e 43**) foram considerados inativos (CI₅₀ > 50 µM).

Considerando os compostos ativos, é possível verificar que as moléculas **19** e **42**, apresentaram os menores valores de CI₅₀, bem como, os melhores índices de seletividade. Em uma observação das estruturas, verifica-se algumas similaridades como, a presença de anel cicloocta[*b*]tiofeno e de substituintes na posição C-4 do anel indol, sendo 4-metoxi para **19** e 4-bromo para **42**.

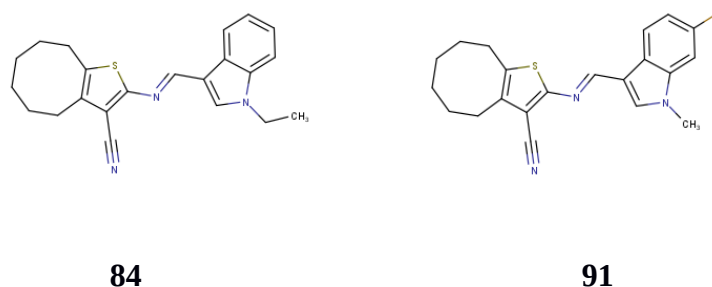
Apresentando menor toxicidade em macrófagos e maior IS, pode-se inferir uma maior segurança por parte desses compostos frente aos medicamentos de referência, antimoniatos de

meglumina e anfotericina B (maior toxicidade para macrófagos e menor IS), Além disso, foram mais eficazes que o antimonial pentavalente ($CI_{50} = 25740$ e 1017 mg/mL).

O composto **19** é mais ativo e mais seguro, apresentando o melhor perfil, com valores de CI_{50} de $2,16$ e $0,90$ μ M (para promastigotas e amastigotas, respectivamente) e $IS = 31,25$ e 75 , foi duas e quatro vezes menos ativo que a anfotericina B contra promastigotas e amastigotas, respectivamente, no entanto, significativamente mais seguro, visto os IS (183 e 96 vezes mais seguro).

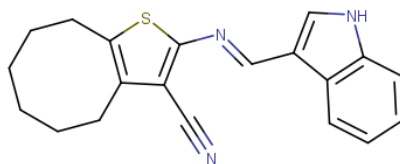
A alquilação no nitrogênio do indol, como observado nos compostos **84** e **91**, acarretou em compostos com atividade intermediária (valores de CI_{50} de $29,3$ e $30,67$ μ M para **84** e $17,41$ e $21,2$ μ M para **91**), inferindo que uma substituição do hidrogênio por grupos alquil no nitrogênio indólico, podem contribuir com a perda da atividade. Observa-se adicionalmente que, quanto maior o comprimento da cadeia alquil, menor a atividade antileishmanial (**91** (com metil) é mais ativa que **84** (com etil)) (**Figura 13**). Estes dados são compatíveis com os resultados do docking molecular exposto na **Tabela 7**, onde é possível observar que para grande parte das enzimas analisadas, o acoplamento forneceu menores valores de ligação para o composto **91**, sugerindo uma maior estabilidade no acoplamento com os alvos estudados.

Figura 12 - Ilustração das estruturas dos compostos **84** e **91**.



Elaboração própria, 2020.

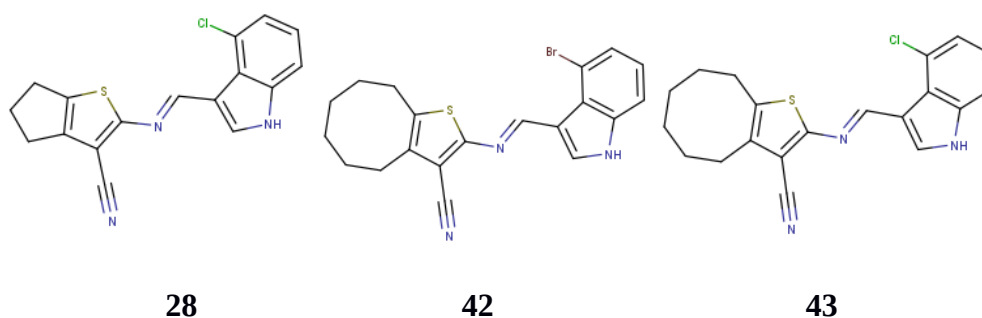
Isso se torna ainda mais evidente quando se compara os resultados da atividade promastigota dos composto **84** ($CI_{50} = 29,3$ μ M) com o composto TN8 ($CI_{50} = 16,21$ μ M) biologicamente avaliado pelo grupo e utilizado neste trabalho para a construção dos modelos de predição (FÉLIX et al., 2016) (**Figura 14**).

Figura 13 - Composto TN8

Fonte: Félix et al., 2016.

Esses dois compostos se diferenciam apenas pela substituição do hidrogênio indol (em TN8) por um radical etil (em **84**). Essa alteração resultou na perda de quase 50% da atividade antipromastigota e intensificando as indicações de que a presença de um doador de uma ligação de hidrogênio nessa posição é favorável à atividade leishmanicida.

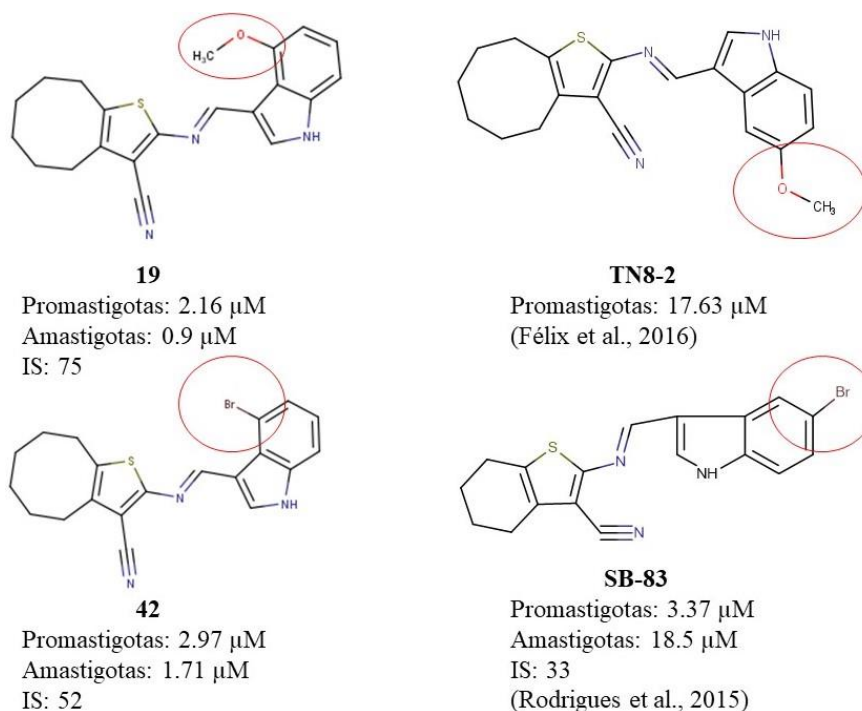
Os compostos inativos (**28** e **43**) diferenciam-se pelo tamanho do anel cicloalquil acoplado ao tiofeno e apresentam em comum a presença do substituinte cloro na posição C-4 do anel indol. O fato de ambos serem inativos, sugere que o padrão de substituição no anel indólico é muito mais importante para a atividade leishmanicida do que o tamanho do radical cicloalquil ligado ao anel tiofeno. Essa noção é reforçada quando se compara o composto **42** (o segundo mais ativo) com o **43** (inativo), onde se observa uma substituição simples e pontual de halogênios no C-4 indólico (cloro em **43** pelo bromo em **42**) (**Figura 15**).

Figura 14 - Estrutura dos compostos **28**, **42** e **43**.

Elaboração própria, 2020.

Modificações da posição do substituinte do anel indol da posição C-5 para a posição C-4, também foram favoráveis à atividade leishmanicida e ao índice de seletividade, como pode ser visto na **Figura 16**.

Figura 15 - Influência da posição do substituinte ligado ao anel indol na atividade leishmanicida (CI_{50}) e no índice de seletividade (IS)



Fonte: Félix et al., 2020.

Realizando-se uma comparação entre os compostos substituídos com o metoxil ($-OMe$), observa-se que o composto 4-substituído (**19**) é pelo menos oito vezes mais ativo que o composto substituído na posição 5 (TN8-2) (FÉLIX et al., 2016) em relação à atividade promastigota. Para compostos substituídos com o bromo ($-Br$), o composto substituído na posição 4 (**42**) é ligeiramente (13%) mais ativo que o composto 5-substituído (SB-83) (RODRIGUES et al., 2015) em relação à atividade promastigota. Entretanto, com relação à atividade anti-amastigota, a substituição na posição 4 promoveu um ganho de mais de 10 vezes em termos de atividade, associado a um aumento de 58% no índice de seletividade, de forma a promover uma substância significativamente mais eficaz e segura.

5.6 CRISTALOGRAFIA DE RAIOS-X DO COMPOSTO 19

O conhecimento da estrutura tridimensional e supramolecular de compostos sintéticos ou naturais são importantes por favorecer a compreensão das propriedades químicas, físicas ou biológicas inerentes ao composto, visando uma melhor interação do fármaco com seu receptor. Logo, a técnica de difração de raios X em monocristais, possibilita a obtenção da densidade eletrônica com

mais alta resolução, de forma a facilitar a determinação da estrutura da molécula, bem como sua distribuição ao longo do espaço do cristal (CASTRO, 2012).

Em razão disto, foi resolvida por cristalografia de raios-X, a estrutura do composto **19** (composto mais ativo), composto mais ativo, em colaboração com o prof. Dr. Carlos Alberto de Simone na Universidade de São Paulo (USP) Os parâmetros cristalográficos, dados do cristal, detalhes da coleta de dados e resultados de refinamento da estrutura são apresentados na **Tabela 24**.

Tabela 25 - Dados de cristal, detalhes de coleta de dados e refinamento de estrutura para 19

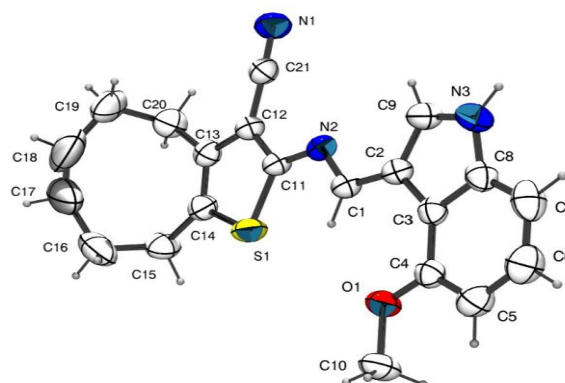
Código de identificação	Composto 19	
Fórmula Empírica	$C_{21}H_{22}N_3OS$	
Peso molecular	363.47	
Temperatura	293(2) K	
Comprimento de onda	0.71073 Å	
Sistema de cristal	monoclínico	
Grupo de espaço	$P2_1/c$	
Dimensões da célula unitária	$a = 7.4269(2)$ Å	$\alpha = 90^\circ$
	$b = 14.2896(5)$ Å	$\beta = 98.145(2)^\circ$
	$c = 17.9412(7)$ Å	$\gamma = 90^\circ$
Volume	$1884.85(11)$ Å ³	
Z	4	
Densidade (calculada)	1.281 Mg/m ³	
Coefficiente de absorção	0.186 mm ⁻¹	
F(000)	768	
Tamanho do cristal	$0.30 \times 0.18 \times 0.07$ mm ³	
Faixa Theta para coleta de dados	2.8 para 27.5°	
Intervalos de índice	$-9 \leq h \leq 8$, $-18 \leq k \leq 17$, $-22 \leq l \leq 23$	
Reflexões coletadas	19381	
Reflexões independentes	4299 [R(int) = 0.04]	
Correção de absorção	Nenhuma	
Método de refinamento	Mínimos quadrados de matriz completa em F^2	
Dados / restrições / parâmetros	2958 / 0 / 235	
Goodness-of-fit on F^2	1.031	
Índices finais R [I > 2sigma(I)]	R1 = 0.069, wR2 = 0.186	
Índices R (todos os dados)	R1 = 0.104, wR2 = 0.215	
Largest diff. peak and hole	0.93 e -1.067 e.Å ⁻³	

Elaboração própria, 2020.

As coordenadas atômicas fracionárias e os parâmetros de temperatura isotrópica ($\text{\AA}^2$) estão depositados no Centro de Dados Cristalográficos de Cambridge (CCDC) e estavam disponíveis em <http://www.ccdc.cam.ac.uk> usando o número de referência CCDC 1951982. A **Figura 12** representa o estereodiagrama da estrutura cristalina do composto **19**. Os átomos não hidrogenoides são desenhados como elipsóides que representam a probabilidade (50%) de que os átomos estejam localizados nos volumes determinados.

Os dados cristalográficos confirmam a estrutura química do composto **19** e, fornecem a estereoquímica da ligação imina ($-\text{CH}=\text{N}-$), confirmando a obtenção do isômero *E*. Essa estereoquímica é a mesma observada nas estruturas químicas de outros derivados tiofeno-indólicos sintetizados e estudados por nosso grupo, como os compostos SB-83 e SB-200 (Rodrigues et al., 2015).

Figura 16 - ORTEP-3 do composto **19**, mostrando os elipsóides de numeração e deslocamento de átomos no nível de probabilidade de 50%



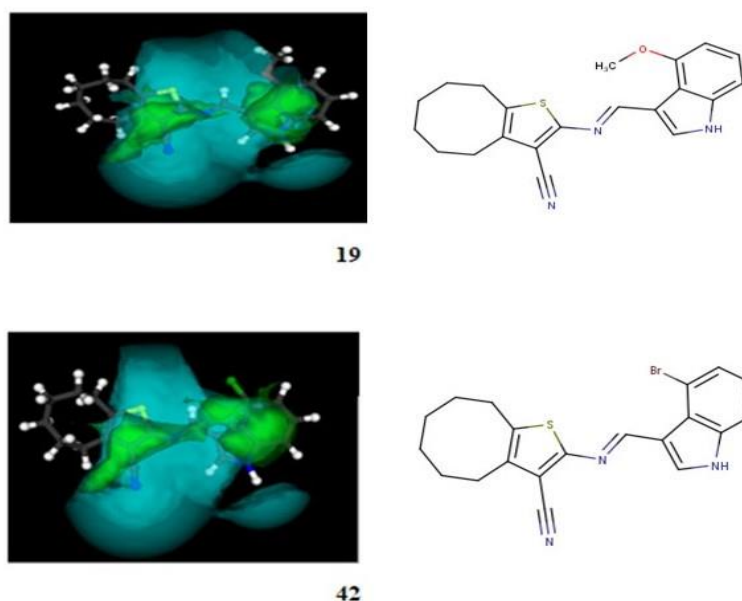
Fonte: Félix et al., 2020.

5.7 ESTUDOS *IN SILICO* X *IN VITRO* DA ATIVIDADE ANTI-*LEISHMANIA* DE DERIVADOS DE 2-AMINO-TIOFENO INDÓLICOS

Será abordado neste tópico apenas a discussão dos dados obtidos para as formas promastigotas, devido ao fato de que para a construção de modelos de predição, foi utilizado dados referentes à avaliação biológica *in vitro* apenas para essas formas parasitárias, conforme proposto por Félix et al. (2016).

Em uma comparação dos valores obtidos nos estudos citados com uma posterior avaliação do volume da superfície polar realizada com os compostos de síntese usando o Volfsurf + (CRUCIANI, 2000), destaca-se aqui o mapa das duas substâncias mais biologicamente ativas, **19** e **42** (**Figura 17**).

Figura 17 - Mapa do volume de superfície polar dos compostos **19** e **42**.



Fonte: Félix et al., 2020.

É possível verificar uma região com maior tendência à hidrofobicidade (**Figura 16**), no anel tiofênico de ambas as substâncias, bem como nas regiões indol com a presença do substituinte bromo que, devido a sua eletronegatividade, apresenta um caráter mais hidrofóbico. O contrário é visto com a presença da metoxila, esta possui uma tendência maior a formar ligações de hidrogênio, conferindo um caráter polar à molécula e, por conseguinte, a região onde esse grupo é encontrado, apresenta maior caráter hidrofílico.

É válida a observação de que, a hipótese apresentada na descrição dos modelos nas **Tabelas 3 e 4**, na qual foi sugerido que os compostos mais ativos seriam os que apresentam substituintes mais polares e com maior números de carbonos no anel cicloalcano, vai ao encontro com o fato de que os dois compostos mais ativos possuem tais características. O que pode indicar uma região de sítio ativo grande (ocorrendo um possível efeito estérico), a ponto de proporcionar um ajuste mais estável de compostos com grupos maiores.

Comparando-se com os compostos **91** e **84**, sugere-se que a redução da atividade pode ser justificada pela presença de grupos que apresentam um caráter mais apolar, sendo um etil no indol da

molécula **84**, proporcionando maior influência apolar do que os substituintes presentes em **91** (metil e flúor). Isso pode ser verificado pelos valores de CI_{50} . (84: 29,30 μM e 91: 17,41 μM para promastigotas).

CONCLUSÕES

A partir da construção de um modelo de predição e realização do *docking* molecular utilizando as substâncias descritas por Félix et al. (2016), foram sugeridas algumas características para os compostos propostos como candidatos a fármacos anti-*Leishmania*. Diante destes resultados, foi possível projetar 92 (noventa e dois) novos derivados 2-[(substituído-indolil)-metileno-amino]-cicloalquil[b]tiofeno-3-carbonitrila.

A partir da predição do pIC_{50} e das possíveis interações moleculares com as enzimas alvo (*docking* molecular), foi possível selecionar 6 (seis) compostos para a realização da síntese e avaliação biológica, de forma a comparar e enfatizar a eficácia e importância dos estudos computacionais na descoberta de novas drogas.

Além disso, observou-se que boa parte das substâncias com bons resultados biológicos, apresentavam anel de oito membros e algum substituinte polar no anel indólico, confirmando as sugestões apresentadas nas descrições realizadas no modelo, bem como, reafirmando sua confiabilidade.

Nos resultados da avaliação biológica, demonstrou-se que uma parte dos compostos exibiu promissora atividade anti-*Leishmania* contra promastigotas (CI_{50} = 2,16 e 2,97 μM) e amastigotas (CI_{50} = 0,9 e 1,71 μM) de *L. amazonensis*, associadas a altos índices de seletividade (entre 30 e 75). A atividade anti-*Leishmania*, dos novos compostos foi menor do que os fármacos de referência, entretanto, os índices de seletividade foram maiores, sugerindo uma maior segurança por parte dos compostos planejados virtualmente.

Em uma comparação dos valores obtidos nos estudos citados, com uma posterior avaliação do volume da superfície polar realizada entre as duas substâncias mais ativas (**19** e **42**), foi possível verificar regiões com maior tendência à hidrofobicidade (anel tiofênico), bem como nas regiões onde há a presença dos substituintes, no caso, o bromo (Composto **42**). Com a presença da metoxila (Composto **19**), foi vista uma maior tendência a formar ligações de hidrogênio, conferindo um caráter polar à molécula, o que nos sugere uma maior especificidade hidrofílica na região onde esse grupo é encontrado.

Tais compostos também foram avaliados em modelos construídos com bancos de dados virtuais e em uma plataforma virtual (Chembench), utilizando os algoritmos Random Forest e kNN

(MuDRA), onde se avaliou a eficácia dos novos derivados indólicos frente à três espécies de *Leishmania* (*L.donovani*, *L. braziliensis*, *L. infantum*). Duas estruturas com boa predição para duas as espécies foram selecionadas, são elas os compostos **37** e **87**, e o composto **42**, que apresentou boa predição em comum com as três espécies estudadas, sendo este possuidor de estrutura que se assemelha a derivados tiofênicos indólicos já avaliados biologicamente, o colocando como um potencial agente antileishmanial e possível multitarget.

No geral, esses resultados reafirmam o potencial e a possibilidade de usar o design racional de fármacos baseado em QSAR para investigar e prever moléculas com promissor potencial leishmanicida.

REFERÊNCIAS

- ACUÑA, S.M.; AOKI, J.I.; LARANJEIRA-SILVA, M.F.; ZAMPIERI, R.F.; FERNANDES, J.C.F.; MUXEL, S.M.; FLOETER-WINTER, L.M. *Arginase expression modulates nitric oxide production in Leishmania (Leishmania) amazonensis*. **PLOS ONE**, v.12, [s.l.], 2017.
- AGUIAR, A.C.V.; MOURA, R.O.; MENDONÇA JUNIOR, F.J.B.; ROCHA, H.A.O.; CÂMARA, R.B.G., SCHIAVON, M.S.C. *Evaluation of the antiproliferative activity of 2-amino thiophene derivatives against human cancer cells lines*. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, [s.l.], v. 84, p. 403-414, 2016.
- ALEXANDER, J.; RUSSEL, D. G. *Parasite antigens, their role protection, diagnosis and escape: the Leishmaniasis*. **Current Topics in Microbiology and Immunology**, [s.l.], v.20, p. 43-63, 1985.
- ALEXANDER, D. L. J.; TROPSHA, A.; WINKLE, D. A. *Beware of R^2 : Simple, Unambiguous Assessment of the Prediction Accuracy of QSAR and QSPR Models*. **Journal of Chemical Information and Modeling**, [s.l.], v. 55, p. 1316–1322, 2015.
- ALIANÇA, A.S.; DOS, S.; OLIVEIRA, A.R.; FEITOSA, A.P.S.; RIBEIRO, K.R.C.; DE CASTRO, M.C.A.B.; LEITE, A.C.L.; ALVES, L.C.; BRAYNER, F.A. *In vitro evaluation of cytotoxicity and leishmanicidal activity of phthalimido-thiazole derivatives*. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, [s.l.], v. 105, p.1–10, 2017.
- ALVAR, J.; VELEZ, I.D.; BERN, C.; HERRERO, M.; DESJEUX, P.; CANO, J.; JANNIN, J.; DEN BOER, M. *Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence*. **PLoS One**, [s.l.], 2012.
- ALVES, F. R. S.; BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. *From Nature to Drug Discovery: The Indole Scaffold as a “Privileged Structure”*. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, [s.l.], v. 9, n.7, p. 782-793, 2009.
- ALVES, V.M.; GOLBRAIKH, A.; CAPUZZI, S.J.; LIU, K.; LAM, W.I.; KORN, D.R.; POZEFSKY, D.; ANDRADE, C.H.; MURATOV, E.N.; TROPSHA, A. *Multi-Descriptor Read Across (MuDRA): A Simple and Transparent Approach for Developing Accurate Quantitative Structure–Activity Relationship Models*. **Journal of Chemical Information and Modeling**, [s.l.], v. 58, p. 1214–1223, 2018.
- AMR, A.; SHERIF, M.H.; ASSY, M.G.; AL-OMAR, M.A.; RAGAB, I. *Antiarrhythmic, serotonin antagonist and antianxiety activities of novel substituted thiophene derivatives synthesized from 2-amino-4,5,6,7-tetrahydro-N-phenylbenzo[b]thiophene-3-carboxamide*. **European Journal of Medicinal Chemistry**, [s.l.], v. 45, p. 5935–5942, 2010.
- ASH, D.E.; COX, J.D.; CHRISTIANSON, D.W. *Arginase: a binuclear manganese metalloenzyme, in: Manganese and Its Role in Biological Processes*, In: A Sigel, H. Sigel (Eds.), **Metal Ions in Biological Systems**, v. 37, p. 407–428, 1999.
- ASHOK, P.; CHANDER, S.; CHOW, L.M.C.; WONG, I.L.K.; SINGH, R.P.; JHA, P.N.; SANKARANARAYANAN, M. *Synthesis and invitro anti-leishmanial activity of (4-arylpiperazin-1-yl)(1-(thiophen-2-yl)-9H-pyrido[3,4-b]indol-3-yl)methanone derivatives*. **Bioorganic Chemistry**, [s.l.], v. 70, p.100-106, 2017.

BAIG, M.B.; AHMAD, K.; ROY, S.; ASHRAF, J.M.; ADIL, M.; SIDDIQUI, M.H.; KHAN, S.; KAMAL, M.A.; PROVAZNÍK, I.; CHOI, I. *Computer Aided Drug Design: Success and Limitations*. **Current Pharmaceutical Design**, [s.l.], v.22, p. 572-581, 2016.

BALANÁ-FOURCE, R.; REGUERA, R.M.; CUBRÍA, C.; ORDONEZ, D. *The pharmacology of Leishmaniasis*. **General Pharmacology**, [s.l.], v.30, p. 435-443, 1998.

BAÑULS, A.L.; BASTIEN, P.; POMARES, C.; AREVALO, J.; FISA, R.; HIDE, M. *Clinical pleiomorphism in human leishmaniasis, with special mention of asymptomatic infection*. **Clinical Microbiology and Infection**; [s.l.], v.17, p.1451-1461, 2011.

BARBOSA, T.P.; SOUSA, S.C.O.; AMORIM, F.M.; RODRIGUES, Y.K.S.; DE ASSIS, P.A.C.; CALDAS, J.P.A.; OLIVEIRA, M.R.; VASCONCELLOS, M.L. *Design, synthesis and antileishmanial in vitro activity of new series of chalcones-like compounds: a molecular hybridization approach*. **Bioorganic & Medicinal**, [s.l.], v. 19, p. 4250-4256, 2011.

BASOGLU, A.; DIRKMANN, S.; GOLPAYEGANI, N.Z.; SILKE VORTHERMS, S.; TENTROP, J.; NOWOTNIK, D.; PRINZ, H.; FROHLICH, R.; MÜLLER, K. *Oxadiazole-substituted naphtho[2,3-b]thiophene-4,9-diones as potent inhibitors of keratinocyte hyperproliferation. Structureactivity relationships of the tricyclic quinone skeleton and the oxadiazole substituent*. **European Journal of Medicinal Chemistry**, [s.l.], v.134, p.119-132, 2017.

BARREIRO, E.J; BOLZANI, V.S. *Biodiversidade: fonte potencial para a descoberta de fármacos*. **Revista Química Nova**, [s.l.], v. 32, n. 3, p. 679-688, 2009.

BAR, R.P.C. **Triagem Virtual de Metabólitos Secundários com Potencial Atividade Antimicrobiana do Gênero *Solanum* e Estudo Fitoquímico de *Solanum capsicoides* All.** 2017, 215p. Dissertação. Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2017. Disponível em: <<https://repositorio.ufpb.br/jspui/bitstream/tede/9069/2/arquivototal.pdf>>. Acesso em :22 abr. 2019.ROS

BELO, V.S.; STRUCHINER, C.J.; BARBOSA, D.S.; NASCIMENTO, B.W. HORTA MA, DA SILVA, E.S.; WERNECK, G.L.; *Risk factors for adverse prognosis and death in American visceral leishmaniasis: a meta-analysis*. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, [s.l.], v. 8, [s.p.], 2014.

BERTHOLD, M.R.; CEBRON, N.; DILL, F.; GABRIEL, T.R.; KÇTTER, T.; MEINL, T.; OHL, K.P.; THIEL, K.; WISWEDEL B. *KNIME-the Konstanz information miner: version 2.0 and beyond*. **AcM SIGKDD Explorations Newsletter**, [s.l.], v.11, p. 26–31, 2009.

BREIMAN, L. *Random forest-random features*. **Mach Learn**, Department statistics University of California, [s.l.], v. 45, p.1-35, 1999.

BÔAS, L.O.B.V. *Estudos in silico e in vitro da histona H2B de *Litopenaeus vannamei* (BOONE, 1931)*. 2018, 51p. Monografia de Graduação. Universidade Federal de Santa Catarina. Santa Catarina, 2018. Disponível em: <<https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/192267/TCC%20vers%c3%a3o%20final%20Luiz%20BU.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>. Acesso em: 10 jul. 2020.

BOLOGNESI, L.M. *Multi-target-directed ligands as innovative tools to combat trypanosomatid diseases*. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, [s.l.], p. 2824–2833, 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral**. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2013.

_____. Ministério da Saúde. **Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral**. Brasília, Editora do Ministério da Saúde, Brasília, 2014.

_____. Ministério da Saúde. **Leishmaniose Visceral: o que é, causas, sintomas, tratamento, diagnóstico e prevenção**. Brasília, Editora do Ministério da Saúde, 2019. Disponível em: <https://www.saude.gov.br/images/pdf/2020/August/25/LV-Casos.pdf>. Acesso em: 01 set. 2020.

BROWN, F.K. *Chemoinformática: o que é e como isso afeta a descoberta de drogas*. **Annual Reports in Medicinal Chemistry**, [s.l.], v. 33, pp. 375-384, 1998.

CASTRO, R.P. **Análise estrutural cristalográfica de protótipos de Fármacos derivados de N-fenilpiperazina e de N-acilidrazona**. 2012, 78p. Dissertação. Universidade Federal de Goiás, 2012. Disponível em: <https://repositorio.bc.ufg.br/tede/bitstream/tede/5122/5/Disserta%c3%a7%c3%a3o%20-%20Rosane%20de%20Paula%20Castro%20-%202012.pdf>. Acesso em: 10 jul. 2020.

CARVALHO, I.; PUPO, M. T.; BORGES, A. D. L.; BERNARDES, L.S.C. *Introdução a modelagem molecular de fármacos no curso experimental de química farmacêutica*. **Química Nova**, [s.l.], v. 26, p. 428-438, 2003.

CAPUZZI, S.J.; KIM, I.S.; LAM, W.I.; THORNTON, T.E.; MURATOV, E.N.; POZEFSKY, D.; TROPSHA, A.; *Chembench: A Publicly Accessible, Integrated Cheminformatics Portal*. **Journal of Chemical Information and Modeling**, [s.l.] v. 57, p.105-108, 2017.

CHAUDHARI, R.; TAN, Z.; HUANG, B.; ZHANG, S. *Computational polypharmacology: a new paradigm for drug Discovery*. **Expert Opinion on Drug Discovery**, [s.l.], v.12, p. 279-291, 2017.

CHRISTIANSON, D.W. *Arginase: structure, mechanism, and physiological role in male and female sexual arousal*. **Accounts of Chemical Research**. [s.l.], v. 38, p.191–201, 2005.

CONSONNI, V.; TODESCHINI, R.; PAVAN, M. *Structure response correlations and similarity diversity analysis by GETAWAY descriptors. 1. Theory of the novel 3D molecular descriptors*. **Journal of Chemical Information and Computer Sciences**, v. [s.l.], 42, p. 682-692, 2002.

COSCONATI, S.; FORLI, S.; PERRYMAN, A.L.; HARRIS, R.; GOODSSELL, D.S.; OLSON, A.J. *Virtual screening with autodock: theory and practice*. **Expert Opinion drug discovery**, [s.l.], v. 5, n. 6, p. 597-607, 2010.

COSTANTINO, L.; BARLOCCO, D. *Challenges in the design of multitarget drugs against multifactorial pathologies: a new life for medicinal chemistry?* **Future Medicinal Chemistry**, [s.l.], v. 5, [s.p.], 2013.

CRUCIANI, G.; PASTOR, M.; GUBA, W. VolSurf: a new tool for the pharmacokinetic optimization of lead compounds. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, [s.l.], v.1, p. 29-39, 2000.

DAS, P.; LAHIRI, A.; LAHIRI, A.; CHAKRAVORTTY, D. Modulation of the Arginase Pathway in the Context of Microbial Pathogenesis: A Metabolic Enzyme Moonlighting as an Immune Modulator, **PLOS Pathog**, [s.l.], v. 6, n. 6, [s.p.], 2010.

DA SETTIMO, F.; LUCACCHINI, A.; MARINI, A. M.; MARTINI, C.; PRIMOFIORE, G.; SANATORE, G.; TALIANI, S. Isosteric replacement of the indole nucleus by benzothiophene and benzofuran in a series of indolylglyoxylylmine derivatives with partial agonist activity at the benzodiazepine receptor. **European Journal of Medicinal Chemistry**, [s.l.], vol. 31, p. 951-56, 1996.

DA SILVA, P.R.; DE OLIVEIRA, J.F.; DA SILVA, A.L.; QUEIROZ, C.M.; FEITOSA, A. P.S.; DUARTE, D.M.F.A.; DA SILVA, A.C.; DE CASTRO, M.C.A.B.; PEREIRA, V.R.A.; DA SILVA, R.M.F.; ALVES, L. C.; DOS SANTOS, F. A.B.; DE LIMA, M.C.A. Novel indol-3-yl-thiosemicarbazone derivatives: Obtaining, evaluation of in vitro leishmanicidal activity and ultrastructural studies. **Chemicol-Biological Interactions**, [s.l.], v. 315, [s.p.], 2020.

DORI, Y. J.; BARAK, M. Virtual and physical molecular modeling: Fostering model perception and spatial understanding. **Educational Technology & Society**, [s.l.], v. 4, n. 1, p. 61-74, 2001.

ELEAMEN, G.R.A.; DA COSTA, S.C.; LIMA-NETO, R.G.; NEVES, R.P.; ROLIM, L.A.; ROLIM-NETO, P.J.; MOURA, R.O.; DE AQUINO, T.M.; BENTO, E. S.; SCOTTI, M.T.; MENDONÇA-JUNIOR, F. J. B.; MENDONÇA, E. A. M.; OLIVEIRA, E. E. Improvement of Solubility and Antifungal Activity of a New Amino thiophene Derivative by Complexation with 2-Hydroxypropyl- β -cyclodextrin. **Journal of the brazilian chemical society**, v. 28, n. 1, p. 116-125, 2017.

ENRAF-NONIUS, 1997-2000. COLLECT. Nonius BV, Delft, The Netherlands.

ESTRADA, E. Spectral moments of the edge adjacency matrix in molecular graphs. 1. Definition and applications to the prediction of physical properties of alkanes. **Journal of Chemical Information and Computer Sciences**, [s.l.], v. 36, p. 844-849, 1996.

FABRITIUS, C.H.; PESONEN, U.; MESSINGER, J.; HORVATH, R.; SALO, H.; ZOWSKI, M.G.; GALEK, M.; STEFAN, K.; SPISAK, J.S.; PŁACHTA, M.O.; BUDA, A.; ADAMCZYK, J.; MARCIN KRÓL, M.; PRUSIS, P.; LUPA, M.S.; MIKULSKI, M.; KUOKKANEN, K.; CHAPMAN, H.; OBUCHOWICZ, R.; KORJAMO, T.; JALAVA, N.; NOWAK, M. 1-Sulfonyl-6-piperazinyl-7-azaindoles as potent and pseudoselective 5-HT₆ receptor antagonists. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, [s.l.], v. 26, p. 2610-2615, 2016.

FAKHR, I. M. I.; RADWAN, M. A. A.; EL-BATRAN, S.; OMAR, M. E.; EL-SALAM, A.; EL-SHENAWY, S. M. Synthesis and pharmacological evaluation of 2-substituted benzo[b]thiophenes as anti-inflammatory and analgesic agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, [s.l.], [s.p.], 2009.

FARRUGIA, L. J. ORTEP3 for Windows. **Journal of Applied Crystallography**, [s.l.], v. 30, p. 565, 1997.

FARRUGIA, L. S. WinGX. **Journal of Applied Crystallography**, v. 32, p. 837-838, 1999.

FÉLIX, M.B.; DE SOUZA, E. R.; DE LIMA, M.C.A.; FRADE, D. K. G.; SERAFIM, V. L.; RODRIGUES, K. A. F.; NÉRIS, P.L.N.; RIBEIRO, F.F.; SCOTTI, L.; SCOTTI, M.T.; DE AQUINO, T.M.; MENDONÇA JUNIOR, F.J.B.; DE OLIVEIRA, M.R. *Antileishmanial activity of new thiophene-indole hybrids: Design, synthesis, biological and cytotoxic evaluation, and chemometric studies*. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**. [s.l.], v. 24, p. 3972 - 3977, 2016.

FÉLIX, M.B. **Desenvolvimento e avaliação biológica de novo derivados 2-amino tiofênicos indólicos como possíveis agentes anti-*Leishmania***. 2016, 75f. Dissertação. Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2016. Disponível em: <<https://repositorio.ufpb.br/jspui/bitstream/tede/9464/2/arquivototal.pdf>>. Acesso em: 10 jul. 2020.

FÉLIX, M.B.; DE ARAÚJO, R.S.A.; BARROS, R.P.C.; DE SIMONE, C.A.; RODRIGUES, R.R.L.; NUNES, T.A.L.; RODRIGUES, K.A.F.; MENDONÇA JÚNIOR, F.J.B.; MURATOV, E.; SCOTTI, L.; SCOTTI, M.T. *Computer-Assisted Design of Thiophene-Indole Hybrids as Leishmanial Agents*. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, [s.l.], v. 20, p. 1700 – 1715, 2020.

FERNANDES, L. R. M. **Leishmaniose: tratamento atual e perspectivas de novos fármacos**. 2014, 68p. Dissertação. Departamento de Química e Farmácia: Universidade do Algarve. Algarve, 2014. Disponível em: <<https://sapiencia.ualg.pt/bitstream/10400.1/7984/1/Disserta%C3%A7%C3%A3o%20Lu%C3%ADs%20Ricardo%20Fernandes.pdf>>. Acesso em: 10 jul. 2020.

FERREIRA, M. A. **Carreadores lipídicos nanoestruturados contendo óleo de urucum (Bixa orellana L.): uma alternativa para o tratamento da leishmaniose cutânea**. 2018, 92f. Dissertação. Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN. Natal, 2018. Disponível em: <https://repositorio.ufrn.br/jspui/bitstream/123456789/27433/1/Carreadoreslip%C3%ADdicosnanoestruturados_Ferreira_2018.pdf>. Acesso em: 10 jul. 2020.

GASTEIGER, J.; ENGEL, T. **Chemoinformatics: a textbook**, Gasteiger, J., Engel, T., eds., Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA: Weinheim, FRG, 2003, 680p. ISBN:978-3-527-30681-7.

GASTEIGER, J. *Chemoinformatics: Achievements and Challenges, a Personal View*. **Molecules**, [s.l.], v. 21, p. 151, 2016.

GEWALD, K. *2-Amino-thiophene aus α -Oxo-mercaptanen und Methylen aktiven Nitrile*. **Chemische Berichte**, [s.l.], p. 3571-7, 1965.

GEWALD, K.; SCHINKE, E.; BÖTTCHER, H. *2-Amino-thiophene aus Methylen aktiven Nitrile, Carbonylverbindungen und Schwefel*. **Chemische Berichte**, [s.l.], p. 94-99, 1966.

GOHLKE, H.; KLEBE, G. *Approaches to the description and prediction of the binding affinity of small-molecule ligands to macromolecular receptors*. **Angewandte Chemie International Edition**, [s.l.], v. 41, p. 2644–2676, 2002.

GOLBRAIKH, A.; TROPSHA, A. *Beware of q^2 !*. **Journal of Molecular Graphics and Modelling**, v. 20, p. 269–276, 2002.

GONSALVES, A. M. A. R.; MELO, T. M. V. D. P. **Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear**. Coimbra, 2007, 216p. ISBN: 978-989-26-0357-5 PDF. DOI <http://dx.doi.org/10.14195/978-989-26-0357-5>.

GUPTA, L.; SUNDURU, N.; VERMAB, A.; SRIVASTAVA, S.; GUPTA, S.; GOYALC, N.; CHAUHAN, P. M. S. *Synthesis and biological evaluation of new [1,2,4]triazino[5,6-b]indol-3-ylthio-1,3,5-triazines and [1,2,4]triazino[5,6-b]indol-3-ylthio-pyrimidines against Leishmania donovani.* **European Journal of Medicinal Chemistry**, [s.l.], v. 45, p. 2359-2365, 2010.

GRAMATICA, P. *Principles of QSAR models validation: internal and external.* **QSAR Combinatorial. Science**, [s.l.], v. 26, n. 5, p. 694–701, 2007.

GRAULS, E. **Api loss during capsule preparation.** *Faculty of Pharmaceutical Sciences, Department of Pharmaceutical Analysis, Laboratory for Drug Quality and Registration (DruQuaR), Academic year 2012-2013, First Master of Pharmaceutical Care, Ghent University.* 2013, 83p. Disponível em: <https://lib.ugent.be/fulltxt/RUG01/002/063/780/RUG01-002063780_2013_0001_AC.pdf>. Acesso em: 10 jul. 2020

GUTIÉRREZ-REBOLLEDO, G. A.; DRIER-JONAS, S.; JIMÉNEZ-ARELLANES, M. A. *Natural compounds and extracts from Mexican medicinal plants with anti-leishmaniasis activity: An update.* **Asian Pac. Journal of Tropical Medicine**, [s.l.], v. 10, p.1105–1110, 2015.

HELLIWELL, M.; NASIOPOULOU, D. A.; HARRIS, P.A.; KOTALI, A.; JOULEA, J. A. *N'-[1-(2,4-Dioxo-3,4-dihydro-2H-1-benzopyran-3-yl-idene)ethyl]thiophene-2-carbo-hydrazide.* **Acta Crystallographica**, [s.l.], v. 67, p. 1014, 2011.

HEMMER, M.C.; STEINHAEUER, V.; GASTEIGER, J. *Radial distribution functions in computational chemistry – theory and applications.* **Vibrat Spect**, [s.l.], v. 19, p. 151-164, 1999.

HUANG, Y.; DÖMLING, A. *The Gewald multicomponent reaction.* **Molecular Diversity**, [s.l.], v.15, p. 3-33, 2011.

HINCHLIFFE, A. *Molecular Modelling for Beginners*, Wiley: West Sussex, 2003.

IRWIN, J. J.; SHOICHET, B. K. *ZINC – A Free Database of Commercially Available Compounds for Virtual Screening.* **Journal of Chemical Information and Modeling**, [s.l.], v. 45, p. 177-181, 2005.

JACOMINI, A.P.; SILVA, M.J.V.; SILVA, R. G. M.; GONÇALVES, D. S.; VOLPATO, H.; BASSO, E. A.; PAULA, F.R.; NAKAMURA, C.V.; SARRAGIOTTO, M.H.; ROSA, F. A. *Synthesis and evaluation against Leishmania amazonensis of novel pyrazolo[3,4-d]pyridazinone-N-acylhydrazone-(bi)thiophene hybrids.* **European Journal of Medicinal Chemistry**, [s.l.], p. 340-349, 2016.

JOULE, J.A.; MILLS, K. **Heterocyclic chemistry**. 15 ed. Wiley-Blackwell: New York, 2010.

JOULE, J. A.; MILLS, K.; SMITH, G. F. In *Indoles: reactions and synthesis.* **Stanley Thornes: Cheltenham**, [s.l.], p. 305-306, 1998.

JORGENSEN, W. L. *Efficient drug lead discovery and optimization.* **Accounts of Chemical Research**, [s.l.], v. 42, p. 724–733, 2009.

KALARIA, P.N.; KARAD, S.C.; RAVAL, D.K. A review on diverse heterocyclic compounds as the privileged scaffolds in antimalarial drug Discovery. *European Journal of Medicinal Chemistry*, [s.l.] v. 158, p. 917-936, 2018.

KERI, R.S.; CHAND, K.; BUDAGUMPI, S.; BALAPPA SOMAPPA, S.; PATIL, S.A.; NAGARAJA, B.M. An overview of benzo[b]thiophene-based medicinal chemistry. *European Journal of Medicinal Chemistry*, [s.l.], v.138, p. 1002–1033, 2017.

KHALIL, A.M.; BERGHOT, M.A.; GOUDA, M.A. Synthesis and antibacterial activity of some new thiazole and thiophene derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*, [s.l.], v. 44, p. 4434-4440, 2009.

KIER, L.B.; HALL, L.H. *Pharmaceutical Research*, [s.l.], v. 7, p. 801-807, 1990.

KODE srl Dragon (Software for Molecular Descriptor Calculation) version 7.0, 2016. Disponível em: <<http://chm.kode-solutions.net>>. Acesso em: 12 jan 2018.

KUBINYI, H. **3D QSAR in Drug Design**. Theory, Methods and Application. Leiden: ESCOM, 1993a.

_____. **QSAR: Hansch Analysis and Related Approaches**. Weinheim: VCH, October, 1993b, 240p. ISBN: 978-3-527-30035-8

KUZ'MIN, V.E.; ARTEMENKO, A.G.; MURATOV, E.N. Hierarchical QSAR technology based on the Simplex representation of molecular structure. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, [s.l.], v. 22, p. 403–421, 2008.

LEACH, A.R. **Molecular Modeling: Principles and Applications**. 2 ed. England: Prentice Hall, 2001.

LIONTA, E.; SPYROU, G.; VASSILATIS, DK.; Cournia, Z. Structure-based virtual screening for drug discovery: principles, applications and recent advances. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, [s.l.], v. 14, p.1923–1938, 2014.

MACALINO, S. J.; GOSU, V.; HONG, S.; CHOI, S. Role of computer-aided drug design in modern drug discovery. *Archives of Pharmacal Research*, Nova York, v. 38, n. 9, p. 1686-701, 2015.

MACHADO MAIL, P.R.; AMPUERO, J.; GUIMARÃES, L.H.; VILLASBOAS, L.; ROCHA, A. T.; SCHRIEFER, A.; SOUSA, R. S.; TALHARI, A.; PENNA, G.; CARVALHO, E.M. Miltefosine in the Treatment of Cutaneous Leishmaniasis Caused by *Leishmania braziliensis* in Brazil: A Randomized and Controlled Trial. *Neglected Tropical Diseases*, [s.l.], v. 12, 2010. DOI <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000912>.

MARCHE, S.; MICHELS, P.A.; OPPERDOES, F.R. Comparative study of *Leishmania mexicana* and *Trypanosoma brucei* NAD-dependent glycerol-3-phosphate dehydrogenase. *Molecular and Biochemical Parasitology*, [s.l.], v.106, p. 83–91, 2000.

MATTHEWS B.W. Comparison of the predicted and observed secondary structure of T4 phage lysozyme. *Biochimica Et Biophysica Acta (bba) – Protein Structure*, [s.l.], v. 405, n. 2, p. 442-451, 1975.

MELO, R.L.F. Formação da corona de lisozima e albumina em nanopartículas de ouro via modelagem molecular. 2019, 89f. Dissertação. **Universidade Federal Rural do Semi-Árido**, 2019. Disponível em: <<http://repositorio.ufersa.edu.br/handle/prefix/4485>>. Acesso em: 10 jul. 2020.

MENDONÇA JUNIOR, F. J. B.; LIMA-NETO, R. G.; OLIVEIRA, T. B.; LIMA, M. C. A.; PITTA, I. R.; GALDINO, S.L.; CRUZ, R. M.; ARAÚJO, R. S. A.; NEVES, R. P. *Synthesis and Evaluation of the Antifungal Activity of 2- (Substituted-Amino)-4,5 – Dialkyl – Thiophene – 3- Carbonitrile Derivatives*. **Latin American Journal of Pharmacy**, [s.l.], v. 30, p. 1492-1499. 2011.

MENG, X.; ZHANG, H.; MEZEI, M.; CUI, M. *Molecular Docking: A powerful approach for structure-based drug discovery*. **Current Computer-Aided Drug Design**, [s.l.], v. 7, p. 146–157, 2011.

MICHELETTI, A. C.; BEATRIZ, A. *Progressos recentes na pesquisa de compostos orgânicos com potencial atividade leishmanicida*. **Revista Virtual de Química**, [s.l.], v. 4, p. 268-286, 2012.

MIKOVSKI, D.; BASSO, J.; DA SILVA, P.; RIBAS, J.L.C. *Química Medicinal E A Sua Importância No Desenvolvimento De Novos Fármacos*. **Revista Saúde e Desenvolvimento**, [s.l.], v.12, n.13, 2018.

MOBYDIGS: TODESCHINI, R.; CONSONNI, V.; MAURI, A.; PAVAN M. *Mobydigs: software for regression and classification models by genetic algorithms*. In: *Nature-inspired methods in chemometrics: genetic algorithms and artificial neural networks*. Elsevier ed., cap. 5, p. 141-167, 2004.

MOHAREB, R.M.; MAYSSOUNE, Y.; ZAKI, M.Y.; NERMEEN, S.; ABBAS, N.S. *Synthesis, antiinflammatory and anti-ulcer evaluations of thiazole, thiophene, pyridine and pyran derivatives derived from androstenedione*. **Steroids**, [s.l.], v. 98, p. 80-91, 2015.

MONTANARI, C. A. *Química Medicinal: contribuição e Perspectiva no desenvolvimento da Farmacoterapia*. **Química Nova**, [s.l.], v. 18, n. 1, p. 56-64, 1995.

MONTEIRO, A.F.M.; SCOTTI, M.T.; SCOTTI, L. *In Silico Studies of Potentially Active 2-Amino-Thiophenic Derivatives Against HIV-1*. **International Journal of Quantitative Structure-Property Relationships**, [s.l.], v. 5, p. 100-119, 2020.

MORGAN, H. P.; MCNAE, I.W.; NOWICKI, M.W.; ZHONG, W.; MICHELS, P.A.M.; AULD, D.S.; FOTHERGILL-GILMORE, L. A.; WALKINSHAW, M. D. *The trypanocidal drug suramin and other trypan blue mimetics are inhibitors of pyruvate kinases and bind to the adenosine site*. **The journal of biological chemistry**. [s.l.], v. 286, p. 31232–31240, 2011.

MORPHY R, RANKOVIC Z. *Designed multiple ligands. An emerging drug discovery paradigm*. **Journal of Medicinal Chemistry**, [s.l.], v. 48, p. 6523-6543, 2005.

MORPHY, R., RANKOVIC, Z. *The practice of Medicinal Chemistry*. 3. ed. Wermuth, C. G. Elsevier ed.: Burlington, cap. 27, 2008.

NAJAFI, A.; ARDAKANI, S. S.; MARJANI, M. *Quantitative structure-activity relationship analysis of the anticonvulsant activity of some benzylacetamides based on genetic algorithm-based multiple linear regression*. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, [s.l.], v. 10, n. 4, p. 483-490, 2011.

NERIS, P.L.N.; CALDAS, J.P.A.; RODRIGUES, Y.K.S.; AMORIM, F.M.; LEITE, J.A.; RODRIGUES-MASCARENHAS, S.; BARBOSA-FILHO J.M.; RODRIGUES, L.C.; OLIVEIRA, M.R. *Neolignan Licarin A presents effect against Leishmania (Leishmania) major associated with immunomodulation in vitro*. **Experimental Parasitology**, [s.l.], v. 135, p. 307-313, 2013.

OTWINOWSKI, Z.; MINOR, W. *HKL Denzo and Scalepack. Methods in Enzymology*, 276, edited by C.W. Carter, Jr. & R.M. Sweet, New York: **Academic Press**, [s.l.], p. 307-326, 1997.

PORWAL, S.; GUPTA., S.; CHAUHAN, P.M.S. *gem-Dithioacetylated indole derivatives as novel antileishmanial agentes*. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, [s.l.], v.27, p.4643-4646, 2017.

PEREIRA, A. L. C. Síntese, elucidação estrutural e estudos in silico de novos compostos 2-amino-tiofênicos imídicos candidatos a fármacos antifúngicos, antileishmanicida e antitumorais. 2019. 164f. Dissertação. Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2019. Disponível em: <<https://repositorio.ufpb.br/jspui/bitstream/123456789/15841/1/Arquivototal.pdf>>. Acesso em: 10 jul. 2020.

PETERS, J.U. *Polypharmacology: Foe or friend*. **Journal of Medicinal Chemistry**, [s.l.], v. 56, p. 8955, 2013.

PRESS, J. B. *The chemistry of heterocyclic compounds: thiophene and its derivatives*. **Gronowitz, S.** Ed, Wiley and Sons: New York, v. 44, p. 353–456, 1985.

PUTEROVÁ, Z.; KRUTOŠÍKOVÁ, A.; VÉGH, D. *Applications substituted 2- aminothiophenes in drug design*. **Nova Biotechnologica**, [s.l.], v. 9, n. 2, p. 167-173, 2009.

REAL, F.; VIDAL, R.O.; CARAZZOLLE, M.F.; MONDEGO, J.M.; COSTA, G.G.; HERAI, R.H.; WÜRTELE, M.; DE CARVALHO, L.M.; CARMONA E.; FERREIRA, R.; MORTARA, R.A.; BARBIÉRI, C.L.; MIECZKOWSKI, P.; DA SILVEIRA, J.F.; BRIONES, M.R.; PEREIRA, G.A.; BAHIA, D. *The genome sequence of Leishmania (Leishmania) amazonensis: Functional annotation and extended analysis of gene models*. **DNA Research**, [s.l.], v. 20, p. 567-81, 2013.

REITHINGER R; DUJARDIN J; LOUZIR H.; PIRMEZ, C.; ALEXANDER, B.; BROOKER, S. *Cutaneous leishmaniasis*. **Lancet Infectious Diseases**, [s.l.], v. 7, n. 9, p. 581–596, 2007.

RODRIGUES, A.B.M. **Análises computacionais para o estudo da fumarato hidratase como potencial alvo para o desenvolvimento de fármacos leishmanicidas**. 2019, 107f. Dissertação. Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2019. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/bitstream/icict/39500/2/aline_rodrigues_ioc_mest_2019.pdf>. Acesso em: 10 jul. 2020.

RODRIGUES, K.A.F.; DIAS, C.N.S.; NÉRIS, P.L.N.; ROCHA, J. C.; SCOTTI, M.T.; SCOTTI, L.; MASCARENHAS, S.R.; VERAS, R. C.; de MEDEIROS, I.A.; KEESENA, T.S.L.; DE OLIVEIRA, T.B.; DE LIMA, M.C.A.; BALLIANOF, T.L.; DE AQUINO, T.M.; DE MOURA, R. L.; MENDONÇA JUNIOR, F.J.B.; OLIVEIRA, M. R. *2-Amino-thiophene derivatives present antileishmanial activity mediated by apoptosis and immunomodulation in vitro*. **European journal of medicinal chemistry**, v. 106, p. 1-14, 2015.

RODRIGUES, K.A.F.; SILVA, D.K.F.; SERAFIM, V.L.; ANDRADE, P.N.; ALVES, A.F.; TAFURIC, V.L.; BATISTA, T.M.; MANGUEIRA, V.M.; SOBRAL, M.V.; DE MOURA, R.O.; MENDONÇA-JUNIOR, F.J.B.; DE OLIVEIRA, M.R.. *SB-83, a 2-Amino-thiophene derivative orally*

bioavailable candidate for the leishmaniasis treatment. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, 2007, v. 108, p. 1670–1678, 2018.

RODRIGUEZ, F.; INIGUEZ, E.; CONTRERAS, G.P.; AHMED, H.; COSTA, T.E.M.M.; SKOUTA, R.; MALDONADO, R.A. *Development of Thiophene Compounds as Potent Chemotherapies for the Treatment of Cutaneous Leishmaniasis Caused by Leishmania major*. **Molecules**, [s.l.], v. 23, p. 1626, 2018.

RUSSEL, R. K. *Comprehensive Heterocyclic Chemistry II: Thiophenes and Their Benzo Derivatives*. **Elsevier Science Ltd.**: Oxford, v. 2, p. 680–682. 1996.

SAINI, S.; KUMAR, A.; SINGH, V.; SINGH, R.; DWIVEDI, J. *Pharmacological significances of pyrimidine derivatives: a review*. **World Journal of Pharmacological Research and Technology**, [s.l.], v. 1 p. 9 –117, 2013.

SANGI, D.P. Estratégias de síntese na descoberta de fármacos: o emprego da síntese orientada pela diversidade estrutural. **Química Nova**, [s.l.], v. 39, p. 995-1006, 2016.

SCHMIDT, T., BERGNER, A., SCHWEDE, T. *Modelling three-dimensional protein structures for applications in drug design*. **Drug Discovery Today**, 2013.

SCHUUR, J.H., SELZER, P., GASTEIGER, J. The Coding of the Three-Dimensional Structure of Molecules by Molecular Transforms and Its Application to Structure-Spectra Correlations and Studies of Biological Activity. **Journal of the American Chemical Society**, [s.l.], v. 36, p. 334-344, 1996.

SCOTTI, L., ISHIKI, H., FERREIRA, M. J. P., MENDONÇA JUNIOR, F. J. B., EMERENCIANO, V. P., SILVA, M. S., SCOTTI, M. T. *In silico Methods Applied in Food Chemistry: A short Review with Bitter and Mutagenic Compounds*. **Letters in Drug Design & Discovery**, [s.l.], v. 9, p. 527-534, 2012a.

SCOTTI, M. T., EMERENCIANO, V., FERREIRA, M. J. P., SCOTTI, L., STEFANI, R., SILVA, M. S., MENDONÇA JUNIOR, F. J. B. *Self-Organizing Maps of Molecular Descriptors for Sesquiterpene Lactones and Their Application to the Chemotaxonomy of the Asteraceae Family*. **Molecules** (Basel. Online), [s.l.], v. 17, p. 4684-4702, 2012b.

SCOTTI, M.T.; SCOTTI, L.; ISHIKI, H.M.; PERON, L.M.; REZENDE, L.; AMARAL, A.T. *Variable-selection approaches to generate QSAR models for a set of antichagasic semicarbazones and analogues*. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems** v. 154, p. 137-149, 2016.

SERAFIM, V L.; FÉLIX, M.B.; SILVA, D.K.F.; RODRIGUES, K.A.F.; ANDRADE, P.N.; DE ALMEIDA, S.M.V.; DOS SANTOS, S.A.; DE OLIVEIRA, J.F.; DE LIMA, M.C.A.; MENDONÇA-JUNIOR, F.J.B.; SCOTTI, M.T.; DE OLIVEIRA, M.R.; DE MOURA, R.O. *New Thiophene-Acridine Compounds: Synthesis, Antileishmanial Activity, DNA Binding, Chemometric and Molecular Docking Studies*. **Chemical Biology & Drug Design**, [s.l.], v. 91, p.1141-1155, 2018.

SHELDRICK, G.M. SHELXS-97. **Program for Crystal Structure Resolution**. University of Göttingen: Göttingen, Germany, 1997.

SHIO, M. T.; PAQUET, M.; MARTEL, C.; BOSSCHAERTS, T.; STIENSTRA, S.; OLIVIER, M.; FORTIN, A. *Drug Delivery by Tattooing to Treat Cutaneous Leishmaniasis*. **Scientific Reports**, [s.l.], v. 4, p. 4156, 2015.

SANTOS-GARCIA, L.; SILVA, D.R.; ASSIS, L.C.; DE ASSIS, T.M.; GAJO, G.C., FERNANDES, I.A.; RAMALHO, T.C.; CUNHA, E.F.F. *Design of Novel N-Myristoyltransferase Inhibitors of Leishmania donovani Using Four-Dimensional Quantitative Structure-Activity Relationship Analysis*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**. [s.l.], v. 29, n.7, p. 1440-1454, 2018.

SILVA, F.C. **Análise ROC**. São José dos Campos. 2006. Disponível em: <https://www.cin.ufpe.br/~jead/bioInformatica/roc_analyzes.pdf>. Acesso em: 9 jun. 2020.

SLIWOSKI, G., KOTHIWALE, S., MEILER, J., LOWE, JR., E.W. *Computational Methods in Drug Discovery*. **Pharmacological reviews**, [s.l.], v. 66, p. 334–395, 2014.

SMITH, A. L.; STEVENSON, G. I.; SWAIN, C. J.; CASTRO, J. L. *Traceless solid phase synthesis of 2,3-disubstituted indoles*. **Tetrahedron Letters**, [s.l.], v. 39, n. 45, p. 8317-8320, 1998.

SOUZA, B.C.C.; DE OLIVEIRA, T.B.; AQUINO, T.M.; DE LIMA, M.C.A.; PITTA, I.R.; GALDINO, S.L.; LIMA, E.O.; GONÇALVES-SILVA, T.; MILITÃO, G.C.; SCOTTI, L.; SCOTTI, M.T.; MENDONÇA JUNIOR, F.J.B. *Preliminary antifungal and cytotoxic evaluation of synthetic cycloalkyl[b]thiophene derivatives with PLS-DA analysis*. **Acta Pharmaceutica**, [s.l.], v. 62, p. 221-236, 2012.

SVENSSON, F., KARLÉN, A., SKÖLD, C. *Virtual Screening Data Fusion Using Both Structure- and Ligand-Based Methods*. **Journal of Chemical Information and Modeling**, [s.l.], v. 52, p. 225–23, 2012.

TAHGHIGHI, A.; HAMZEH-MIVEHROUD, M.; ZEYNALID, K.A.; FOROUMADIE, A.; DASTMALCHI, S. *QSAR and docking studies on the (5-nitroheteroaryl-1,3,4-thiadiazole-2-yl) piperazinyl analogs with antileishmanial activity*. **Journal Chemometrics**, [s.l.], v. 30, p. 284–293, 2016.

THANNA, S., KNUDSON, S. E., GRZEGORZEWICZ, A., KAPIL, S., GOINS, C. M., RONNING, D. R., JACKSON, M., SLAYDEN, R. A., SUCHECK, S. J., *Synthesis and evaluation of new 2-aminothiophenes against Mycobacterium tuberculosis*. **Organic & Biomolecular Chemistry**, [s.l.], v. 14, pp. 6119, 2016.

TRIPATHY, A.; AGRAWAL, A.; RATH, S.K. *Classification of sentiment reviews using n-gram machine learning approach*. **Expert Systems with Applications**. [s.l.], v. 57, n. 15, p. 117-126, 2016.

THORPE, T.E. *Victor Meyer memorial lecture*. **Journal of the Chemical Society**, [s.l.], v. 77, p. 169-206, 1900.

TODESCHINI, R., MAURI, A., CONSONNI, V., PAVAN, M. **MobyDigs: software for regression and classification models by genetic algorithms**. In: *Nature-inspired methods in chemometrics: genetic algorithms and artificial neural networks*. Elsevier ed., Cap. 5, 2003.

TROTT, O.; OLSON, A.J. *Software News and update autodock vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, eficiente optimization, and multithreading. Journal of Computational Chemistry*, [s.l.], v. 31, n. 2, p. 455-461, 2009.

UEDA-NAKAMURA, T.R.R.; MORGADO-DÍAZ, J.A.; KOREHISA MAZA, P.; PRADO DIAS FILHO, B.; APARÍCIO GARCIA CORTEZ, D.; ALVIANO, D.S.; ROSA, Mdo S., LOPES, A.H., ALVIANO, C.S., NAKAMURA, C.V. Antileishmanial activity of Eugenol-rich essential oil from *Ocimum gratissimum*. *International Journal for Parasitology*, [s.l.], v. 55, p. 99-105, 2006.

VERA-IZAGUIRRE, D.; VEGA-MEMIJE, E.; QUINTANILLA-CEDILLO, M.R.; ARENAS, R. *Leishmaniasis revisión. DCMQ.*, [s.l.], v. 4, p. 252–260, 2006.

VIEGAS-JUNIOR, C.; DANUELLO, A.; BOLZANI, V. S.; BARREIRO, E.J.; FRAGA, C.A.M. *Molecular hybridization: A useful tool in the design of new drug prototypes. Current Medicinal Chemistry*, [s.l.], v. 14, p. 1829, 2007.

VINCENDEAU, P.; GOBERT, A.P.; DAULOUÈDE, S.; MOYNET, D.; MOSSALAYI, M.D. *Arginases in parasitic diseases. Trends Parasitology*, [s.l.], v.19, p. 9–12, 2003.

VOELKEL, A. *Structural descriptors in organic chemistry-new topological parameter based on electrotopological state of graph vertices. Computers & Chemistry*, [s.l.], v. 18, n. 1, p. 1-4, 1994.

WALTERS, W. P., STAHL, M. T., MURCKO, M. A. *Virtual ScreeningAn Overview. Drug Discovery Today*, [s.l.], v. 3, p. 160-178, 1998.

WARDAKHAN, W.W.; SAMIR, E.M.; EL-ARAB, E.E. *Synthesis and cytotoxicity of novel thiophene, pyran and pyridine derivatives. Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia*, [s.l.], v. 32, p. 259-270, 2018.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). *Leshimaniasis*. Disponível em: <<https://www.who.int/medacentre/factsheets/fs375/en>>. Acesso em: 16 jun. 2020.

WILD, D. *Introducing cheminformatics: an intensive self-guided study*, 2nd ed., McGraw-Hill Open Publishing, 2013.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). *Leishmaniasis*, 2017. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs375/en/>>. Acesso em: 16 jun. 2020.

WOLD S.; Eriksson, L. *Statistical validation of QSAR results. In: H. van de Waterbeemd (Ed.), Chemometrics Methods in Molecular Design, VCH, Weinheim*, [s.l.], p. 309–318, 1995.

YOUNG, D. C. *Computational drug design: A guide for computational and medicinal chemists, John Wiley & Sons*, [s.l.], v.14, 2009.

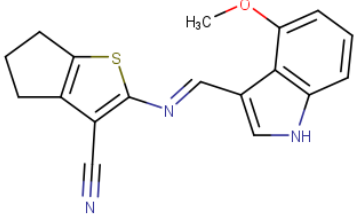
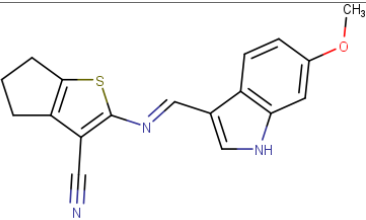
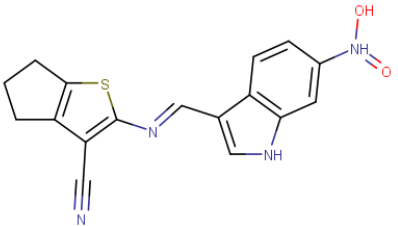
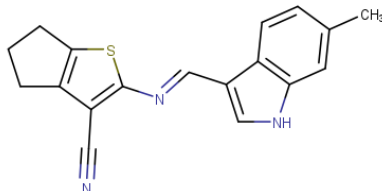
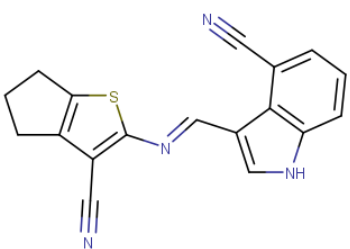
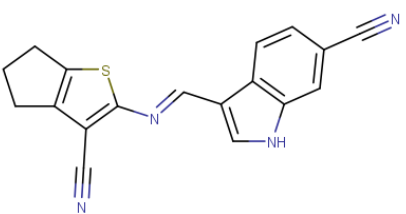
ZHANG, L.; CHEN, C.J.; CHEN, J.; ZHAO, Q.Q.; YA LI, Y.; GAO, K. *Thiophene acetylenes and furanosesquiterpenes from Xanthopappus subacaulis and their antibacterial activities. Phytochemistry*, [s.l.], v. 106, p. 134-140, 2014.

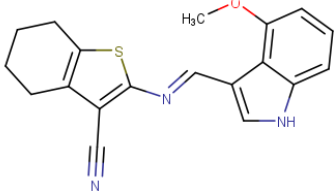
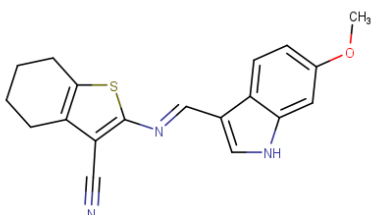
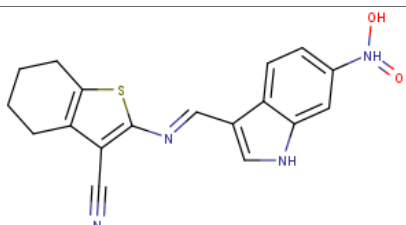
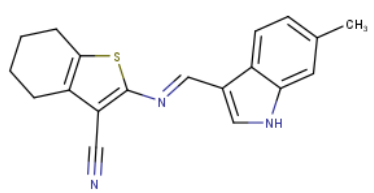
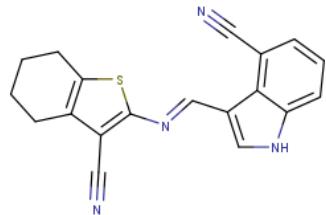
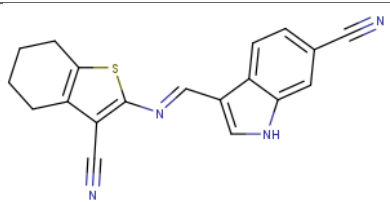
ZHANG X., XIXIN H., QIUHE C., JUNFENG, L., RAPPOSELLI, S., RONGBIAO, P. *A review on the hybrids of hydroxycinnamic acid as multi-targetdirected ligands against Alzheimer's disease. **Bioorganic & Medicinal Chemistry***, [s.l.], v. 26, pp. 543-550, 2018.

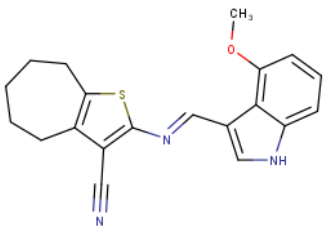
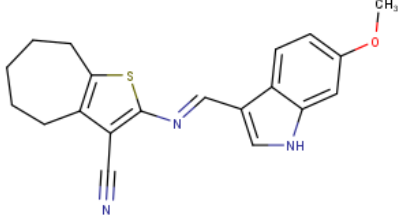
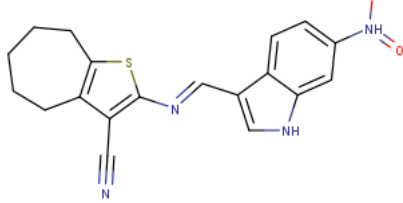
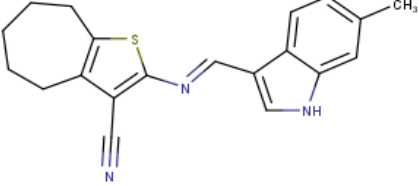
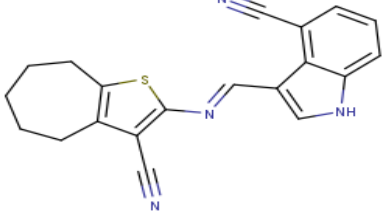
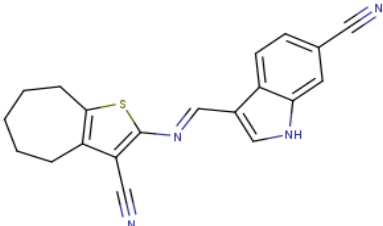
ZHONGHAI, W. *Experimental and theoretical studies on organic attachment to silicon surfaces*. 2005, 203p. Tese. Departamento de Química, Universidade Nacional de Singapura, p. 203, 2005.

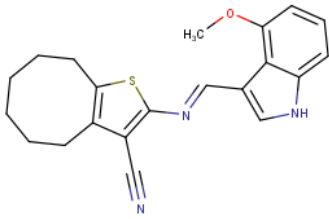
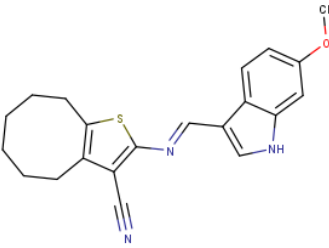
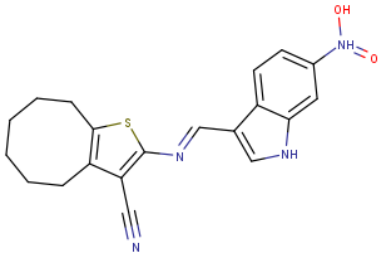
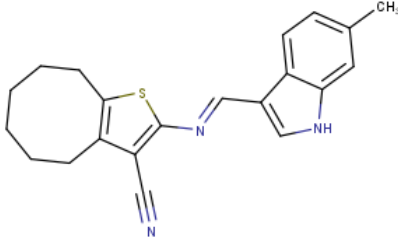
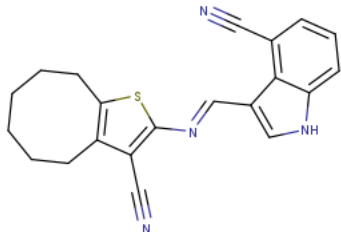
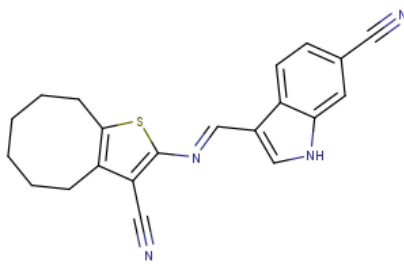
ZULFIQAR, B., SHELPER, T., AVERY, V. *Leishmaniasis drug discovery: recent progress and challenges in assay development. **Drug Discovery Today***, [s.l.], v. 22, p. 1516–1531, 2017.

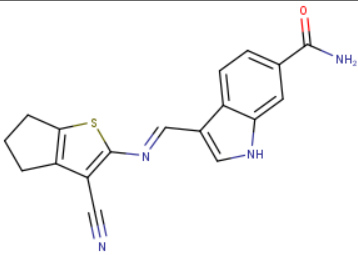
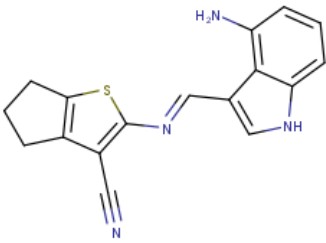
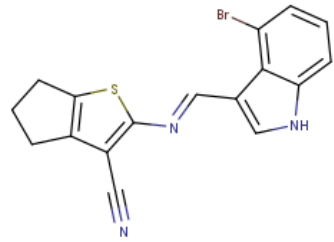
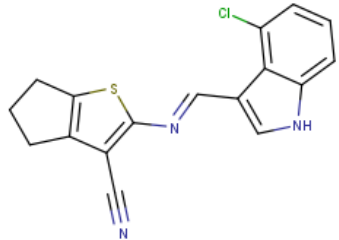
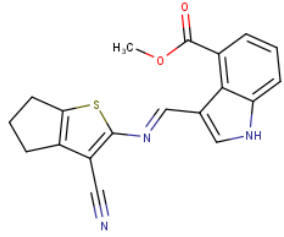
ANEXO I

ID	Estrutura	Nomenclatura
1		2-[(E)-[(4-metóxi-1H-indol-3-il)metilideno]amino]-4H,5H,6H-ciclopenta[b]tiofeno-3-carbonitrila
2		2-[(E)-[(6-metóxi-1H-indol-3-il)metilideno]amino]-4H,5H,6H-ciclopenta[b]tiofeno-3-carbonitrila
3		2-[(E)-[(6-nitro-1H-indol-3-il)metilideno]amino]-4H,5H,6H-ciclopenta[b]tiofeno-3-carbonitrila
4		2-[(E)-[(6-metil-1H-indol-3-il)metilideno]amino]-4H,5H,6H-ciclopenta[b]tiofeno-3-carbonitrila
5		3-[(E)-({3-ciano-4H,5H,6H-ciclopenta[b]tiofen-2-il}imino)metil]-1H-indol-4-carbonitrila
6		3-[(E)-({3-ciano-4H,5H,6H-ciclopenta[b]tiofen-2-il}imino)metil]-1H-indol-6-carbonitrila

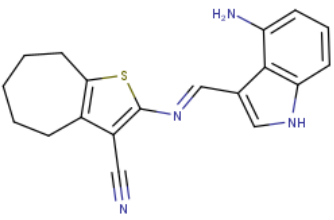
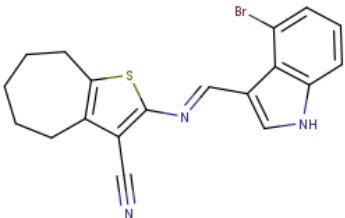
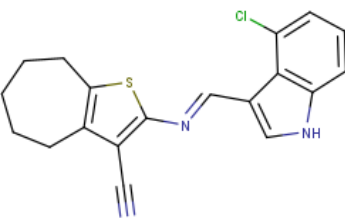
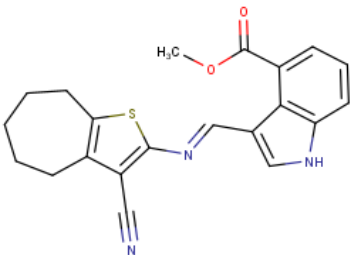
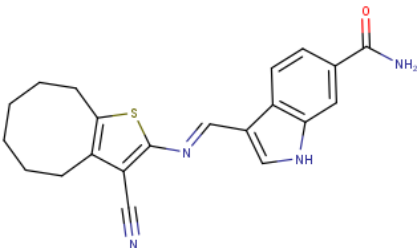
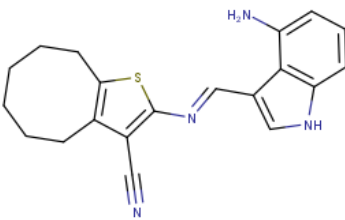
7		2-[(<i>E</i>)-[(4-metóxi-1H-indol-3-il)metilideno]amino]-4,5,6,7-tetraidro[<i>b</i>]benzotiofeno-3-carbonitrila
8		2-[(<i>E</i>)-[(6-metóxi-1H-indol-3-il)metilideno]amino]-4,5,6,7-tetraidro[<i>b</i>]benzotiofeno-3-carbonitrila
9		2-[(<i>E</i>)-[(6-nitro-1H-indol-3-il)metilideno]amino]-4,5,6,7-tetraidro[<i>b</i>]benzotiofeno-3-carbonitrila
10		2-[(<i>E</i>)-[(6-metil-1H-indol-3-il)metilideno]amino]-4,5,6,7-tetraidro[<i>b</i>]benzotiofeno-3-carbonitrila
11		3-[(<i>E</i>)-[(3-ciano-4,5,6,7-tetraidro[<i>b</i>]benzotiofen-2-il)imino]metil]-1H-indol-4-carbonitrila
12		3-[(<i>E</i>)-[(3-ciano-4,5,6,7-tetraidro[<i>b</i>]benzotiofen-2-il)imino]metil]-1H-indol-6-carbonitrila

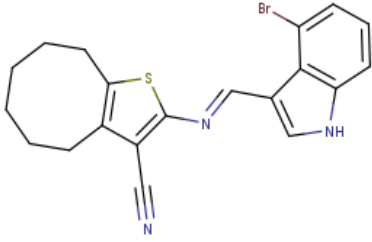
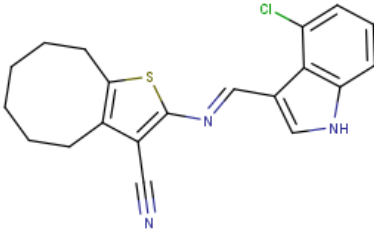
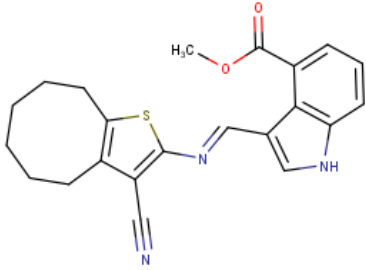
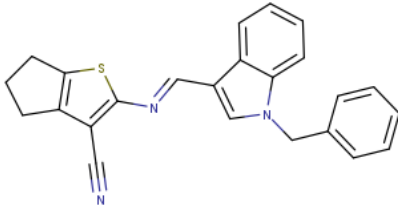
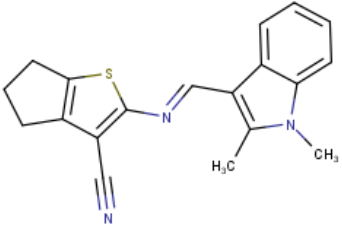
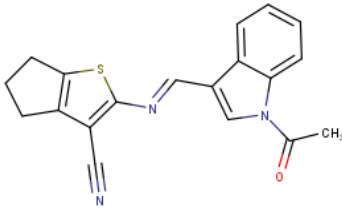
13		2-[(<i>E</i>)-[(4-metóxi-1H-indol-3-il)metilideno]amino]-4H,5H,6H,7H,8H-ciclohepta[<i>b</i>]tiofeno-3-carbonitrila
14		2-[(<i>E</i>)-[(6-metóxi-1H-indol-3-il)metilideno]amino]-4H,5H,6H,7H,8H-ciclohepta[<i>b</i>]tiofeno-3-carbonitrila
15		2-[(<i>E</i>)-[(6-nitro-1H-indol-3-il)metilideno]amino]-4H,5H,6H,7H,8H-ciclohepta[<i>b</i>]tiofeno-3-carbonitrila
16		2-[(<i>E</i>)-[(6-metil-1H-indol-3-il)metilideno]amino]-4H,5H,6H,7H,8H-ciclohepta[<i>b</i>]tiofeno-3-carbonitrila
17		3-[(<i>E</i>)-({3-ciano-4H,5H,6H,7H,8H-ciclohepta[<i>b</i>]tiofen-2-il}imino)metil]-1H-indol-4-carbonitrila
18		3-[(<i>E</i>)-({3-ciano-4H,5H,6H,7H,8H-ciclohepta[<i>b</i>]tiofen-2-il}imino)metil]-1H-indol-6-carbonitrila

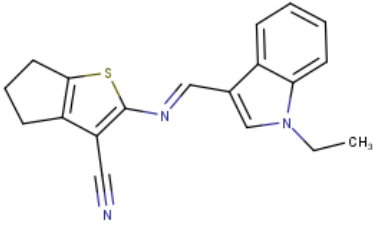
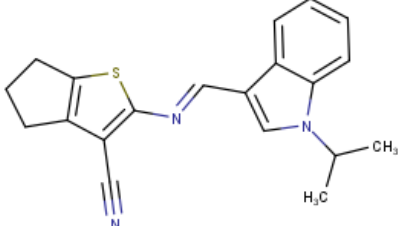
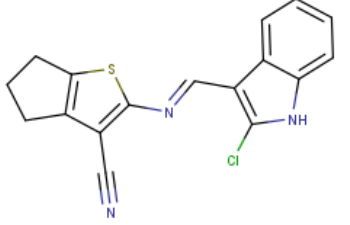
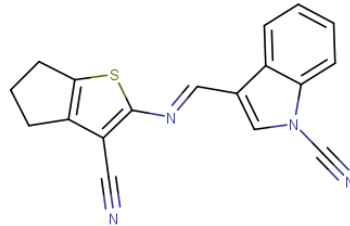
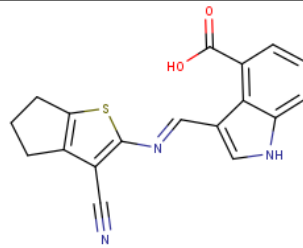
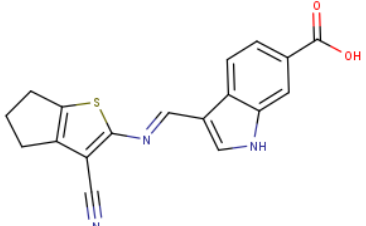
19		2-[(<i>E</i>)-[(4-metóxi-1H-indol-3-il)metilideno]amino]-4H,5H,6H,7H,8H,9H-cicloocta[<i>b</i>]tiofeno-3-carbonitrila
20		2-[(<i>E</i>)-[(6-metóxi-1H-indol-3-il)metilideno]amino]-4H,5H,6H,7H,8H,9H-cicloocta[<i>b</i>]tiofeno-3-carbonitrila
21		2-[(<i>E</i>)-[(6-nitro-1H-indol-3-il)metilideno]amino]-4H,5H,6H,7H,8H,9H-cicloocta[<i>b</i>]tiofeno-3-carbonitrila
22		2-[(<i>E</i>)-[(6-metil-1H-indol-3-il)metilideno]amino]-4H,5H,6H,7H,8H,9H-cicloocta[<i>b</i>]tiofeno-3-carbonitrila
23		3-[(<i>E</i>)-({3-ciano-4H,5H,6H,7H,8H,9H-cicloocta[<i>b</i>]tiofen-2-il}imino)metil]-1H-indol-4-carbonitrila
24		3-[(<i>E</i>)-({3-ciano-4H,5H,6H,7H,8H,9H-cicloocta[<i>b</i>]tiofen-2-il}imino)metil]-1H-indol-6-carbonitrila

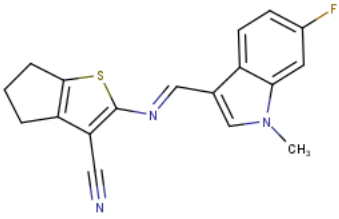
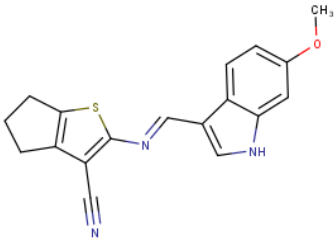
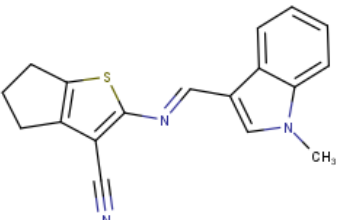
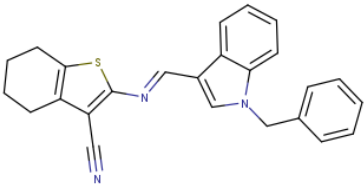
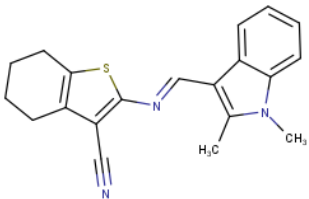
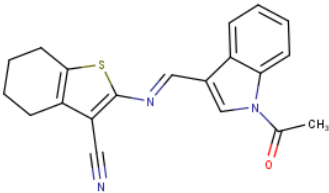
25		3-[(<i>E</i>)-({3-ciano-4H,5H,6H-ciclopenta[<i>b</i>]tiofen-2-il}imino)metil]-1H-indol-6-carboxamida
26		2-[(<i>E</i>)-[(4-amino-1H-indol-3-il)metilideno]amino]-4H,5H,6H-ciclopenta[<i>b</i>]tiofeno-3-carbonitrila
27		2-[(<i>E</i>)-[(4-bromo-1H-indol-3-il)metilideno]amino]-4H,5H,6H-ciclopenta[<i>b</i>]tiofeno-3-carbonitrila
28		2-[(<i>E</i>)-[(4-cloro-1H-indol-3-il)metilideno]amino]-4H,5H,6H-ciclopenta[<i>b</i>]tiofeno-3-carbonitrila
29		Metil 3-[(<i>E</i>)-({3-ciano-4H,5H,6H-ciclopenta[<i>b</i>]tiofen-2-il}imino)metil]-1H-indol-4-carboxilato

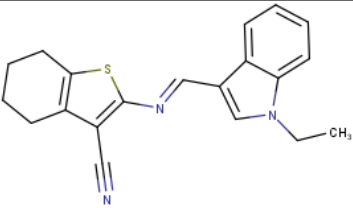
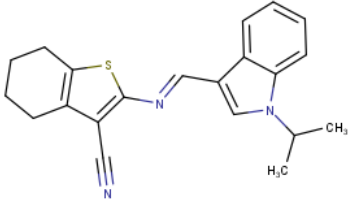
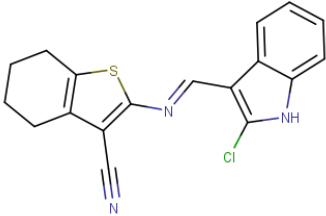
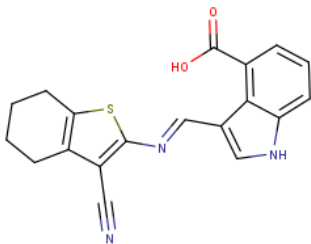
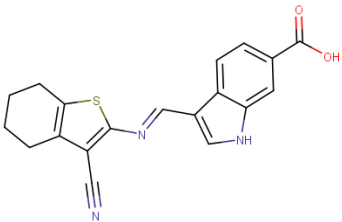
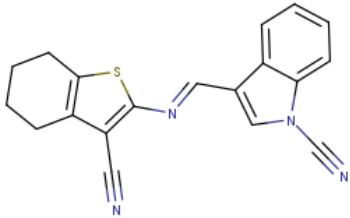
30		3-[(<i>E</i>)-[(3-ciano-4,5,6,7-tetraidro-[<i>b</i>]-benzotiofen-2-il)imino]metil]-1H-indol-6-carboxamida
31		2-[(<i>E</i>)-[(4-amino-1H-indol-3-il)metilideno]amino]-4,5,6,7-tetraidro-[<i>b</i>]-benzotiofeno-3-carbonitrila
32		2-[(<i>E</i>)-[(4-bromo-1H-indol-3-il)metilideno]amino]-4,5,6,7-tetraidro-[<i>b</i>]-benzotiofeno-3-carbonitrila
33		2-[(<i>E</i>)-[(4-cloro-1H-indol-3-il)metilideno]amino]-4,5,6,7-tetraidro-[<i>b</i>]-benzotiofeno-3-carbonitrila
34		Metil 3-[(<i>E</i>)-[(3-ciano-4,5,6,7-tetraidro-1-benzotiofen-2-il)imino]metil]-1H-indol-4-carboxilato
35		3-[(<i>E</i>)-({3-ciano-4H,5H,6H,7H,8H-ciclohepta[<i>b</i>]tiofen-2-il}imino)metil]-1H-indol-6-carboxamida

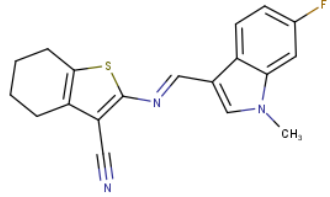
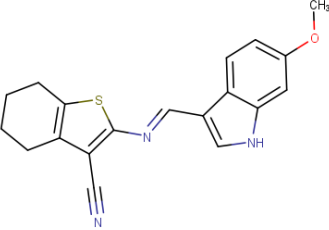
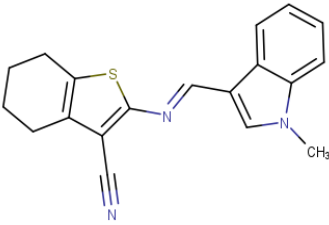
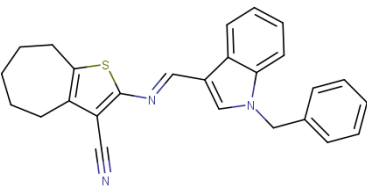
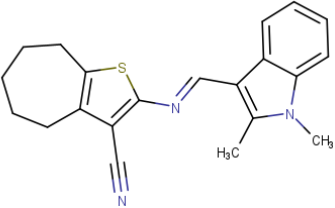
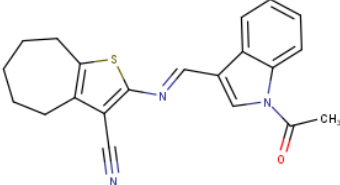
36		2-[(E)-[(4-amino-1H-indol-3-yl)methylidene]amino]-4H,5H,6H,7H,8H-ciclohepta[b]tiofeno-3-carbonitrila
37		2-[(E)-[(4-bromo-1H-indol-3-yl)methylidene]amino]-4H,5H,6H,7H,8H-ciclohepta[b]tiofeno-3-carbonitrila
38		2-[(E)-[(4-cloro-1H-indol-3-yl)methylidene]amino]-4H,5H,6H,7H,8H-ciclohepta[b]tiofeno-3-carbonitrila
39		Metil 3-[(E)-({3-ciano-4H,5H,6H,7H,8H-ciclohepta[b]tiofen-2-il}imino)metil]-1H-indeno-4-carboxilato
40		3-[(E)-({3-ciano-4H,5H,6H,7H,8H,9H-cicloocta[b]tiofen-2-il}imino)metil]-1H-indol-6-carboxamida
41		2-[(E)-[(4-amino-1H-indol-3-yl)methylidene]amino]-4H,5H,6H,7H,8H,9H-cicloocta[b]tiofeno-3-carbonitrila

42		2-[(<i>E</i>)-[(4-bromo-1H-indol-3-yl)methylideno]amino]-4H,5H,6H,7H,8H,9H-cycloocta[<i>b</i>]tiofeno-3-carbonitrila
43		2-[(<i>E</i>)-[(4-cloro-1H-indol-3-yl)methylideno]amino]-4H,5H,6H,7H,8H,9H-cicloocta[<i>b</i>]tiofeno-3-carbonitrila
44		Metil 3-[(<i>E</i>)-({3-ciano-4H,5H,6H,7H,8H,9H-cicloocta[<i>b</i>]tiofen-2-yl}imino)metil]-1H-indeno-4-carboxilato
45		2-[(<i>E</i>)-[(1-benzil-1H-indol-3-yl)methylideno]amino]-4H,5H,6H-ciclopenta[<i>b</i>]tiofeno-3-carbonitrila
46		2-[(<i>E</i>)-[(1,2-dimetil-1H-indol-3-yl)methylideno]amino]-4H,5H,6H-ciclopenta[<i>b</i>]tiofeno-3-carbonitrila
47		2-[(<i>E</i>)-[(1-acetil-1H-indol-3-yl)methylideno]amino]-4H,5H,6H-ciclopenta[<i>b</i>]tiofeno-3-carbonitrila

48		2-[(<i>E</i>)-[(1-etil-1H-indol-3-il)metilideno]amino]-4H,5H,6H-ciclopenta[<i>b</i>]tiofeno-3-carbonitrila
49		2-[(<i>E</i>)-{[1-(propan-2-il)-1H-indol-3-il]metilideno}amino]-4H,5H,6H-ciclopenta[<i>b</i>]tiofeno-3-carbonitrila
50		2-[(<i>E</i>)-[(2-cloro-1H-indol-3-il)metilideno]amino]-4H,5H,6H-ciclopenta[<i>b</i>]tiofeno-3-carbonitrila
51		3-[(<i>E</i>)-({3-ciano-4H,5H,6H-ciclopenta[<i>b</i>]tiofen-2-il}imino)metil]-1H-indol-1-carbonitrila
52		3-[(<i>E</i>)-({3-ciano-4H,5H,6H-ciclopenta[<i>b</i>]tiofen-2-il}imino)metil]-1H-indol-4-ácido carboxílico
53		3-[(1 <i>E</i>)-({3-ciano-4H,5H,6H-ciclopenta[<i>b</i>]tiofen-2-il}imino)metil]-1H-indol-6-ácido carboxílico

54		2-[(<i>E</i>)-[(6-flúor-1-metil-1H-indol-3-il)metilideno]amino]-4H,5H,6H-ciclopenta[<i>b</i>]tiofeno-3-carbonitrila
55		2-[(<i>E</i>)-[(6-metóxi-1H-indol-3-il)metilideno]amino]-4H,5H,6H-ciclopenta[<i>b</i>]tiofeno-3-carbonitrila
56		2-[(<i>E</i>)-[(1-metil-1H-indol-3-il)metilideno]amino]-4H,5H,6H-ciclopenta[<i>b</i>]tiofeno-3-carbonitrila
57		2-[(<i>E</i>)-[(1-benzil-1H-indol-3-il)metilideno]amino]-4,5,6,7-tetraidro-[<i>b</i>]-benzotiofeno-3-carbonitrila
58		2-[(<i>E</i>)-[(1,2-dimetil-1H-indol-3-il)metilideno]amino]-4,5,6,7-tetraidro-[<i>b</i>]-benzotiofeno-3-carbonitrila
59		2-[(<i>E</i>)-[(1-acetil-1H-indol-3-il)metilideno]amino]-4,5,6,7-tetraidro-[<i>b</i>]-benzotiofeno-3-carbonitrila

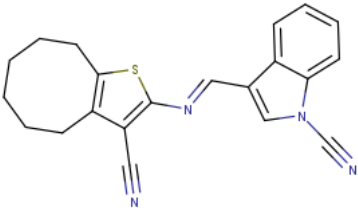
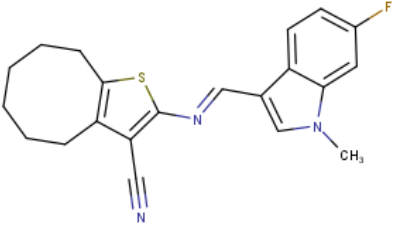
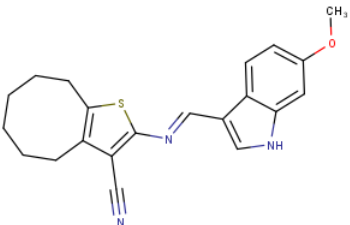
60		2-[(<i>E</i>)-[(1-etil-1H-indol-3-il)metilideno]amino]-4,5,6,7-tetraidro-[<i>b</i>]-benzotiofeno-3-carbonitrila
61		2-[(<i>E</i>)-{[1-(propan-2-il)-1H-indol-3-il]metilideno}amino]-4,5,6,7-tetraidro-[<i>b</i>]-benzotiofeno-3-carbonitrila
62		2-[(<i>E</i>)-[(2-cloro-1H-indol-3-il)metilideno]amino]-4,5,6,7-tetraidro-[<i>b</i>]-benzotiofeno-3-carbonitrila
63		3-[(<i>E</i>)-[(3-ciano-4,5,6,7-tetraidro-[<i>b</i>]-benzotiofen-2-il)imino]metil]-1H-indol-4-ácido carboxílico
64		3-[(<i>E</i>)-[(3-ciano-4,5,6,7-tetraidro-[<i>b</i>]-benzotiofen-2-il)imino]metil]-1H-indol-6-ácido carboxílico
65		3-[(<i>E</i>)-[(3-ciano-4,5,6,7-tetraidro-[<i>b</i>]-benzotiofen-2-il)imino]metil]-1H-indol-1-carbonitrila

66		2-[(<i>E</i>)-[(6-flúor-1-metil-1H-indol-3-il)metilideno]amino]-4,5,6,7-tetraidro-[<i>b</i>]-benzotiofeno-3-carbonitrila
67		2-[(<i>E</i>)-[(6-metóxi-1H-indol-3-il)metilideno]amino]-4,5,6,7-tetraidro-[<i>b</i>]-benzotiofeno-3-carbonitrila
68		2-[(<i>E</i>)-[(1-metil-1H-indol-3-il)metilideno]amino]-4,5,6,7-tetraidro-[<i>b</i>]-benzotiofeno-3-carbonitrila
69		2-[(<i>E</i>)-[(1-benzil-1H-indol-3-il)metilideno]amino]-4H,5H,6H,7H,8H-ciclohepta[<i>b</i>]tiofeno-3-carbonitrila
70		2-[(<i>E</i>)-[(1,2-dimetil-1H-indol-3-il)metilideno]amino]-4H,5H,6H,7H,8H-ciclohepta[<i>b</i>]tiofeno-3-carbonitrila
71		2-[(<i>E</i>)-[(1-acetil-1H-indol-3-il)metilideno]amino]-4H,5H,6H,7H,8H-ciclohepta[<i>b</i>]tiofeno-3-carbonitrila

72		2-[(<i>E</i>)-[(1-etil-1H-indol-3-il)metilideno]amino]-4H,5H,6H,7H,8H-ciclohepta[<i>b</i>]tiofeno-3-carbonitrila
73		2-[(<i>E</i>)-{[1-(propan-2-il)-1H-indol-3-il]metilideno} amino]-4H,5H,6H,7H,8H-ciclohepta[<i>b</i>]tiofeno-3-carbonitrila
74		2-[(<i>E</i>)-[(1-metil-1H-indol-3-il)metilideno]amino]-4H,5H,6H,7H,8H-ciclohepta[<i>b</i>]tiofeno-3-carbonitrila
75		2-[(<i>E</i>)-[(2-cloro-1H-indol-3-il)metilideno]amino]-4H,5H,6H,7H,8H-ciclohepta[<i>b</i>]tiofeno-3-carbonitrila
76		3-[(<i>E</i>)-({3-ciano-4H,5H,6H,7H,8H-ciclohepta[<i>b</i>]tiofen-2-il}imino)metil]-1H-indol-4-ácido carboxílico
77		3-[(<i>E</i>)-({3-ciano-4H,5H,6H,7H,8H-ciclohepta[<i>b</i>]tiofen-2-il}imino)metil]-1H-indol-6-ácido carboxílico

78		3-[(<i>E</i>)-({3-ciano-4H,5H,6H,7H,8H-ciclohepta[<i>b</i>]tiofen-2-il}imino)metil]-1H-indol-1-carbonitrila
79		2-[(<i>E</i>)-[(6-flúor-1-metil-1H-indol-3-il)metilideno]amino]-4H,5H,6H,7H,8H-ciclohepta[<i>b</i>]tiofeno-3-carbonitrila
80		2-[(<i>E</i>)-[(6-metóxi-1H-indol-3-il)metilideno]amino]-4H,5H,6H,7H,8H-ciclohepta[<i>b</i>]tiofeno-3-carbonitrila
81		2-[(<i>E</i>)-[(1-benzil-1H-indol-3-il)metilideno]amino]-4H,5H,6H,7H,8H,9H-cicloocta[<i>b</i>]tiofeno-3-carbonitrila
82		2-[(<i>E</i>)-[(1,2-dimetil-1H-indol-3-il)metilideno]amino]-4H,5H,6H,7H,8H,9H-cicloocta[<i>b</i>]tiofeno-3-carbonitrila
83		2-[(<i>E</i>)-[(1-acetil-1H-indol-3-il)metilideno]amino]-4H,5H,6H,7H,8H,9H-cicloocta[<i>b</i>]tiofeno-3-carbonitrila

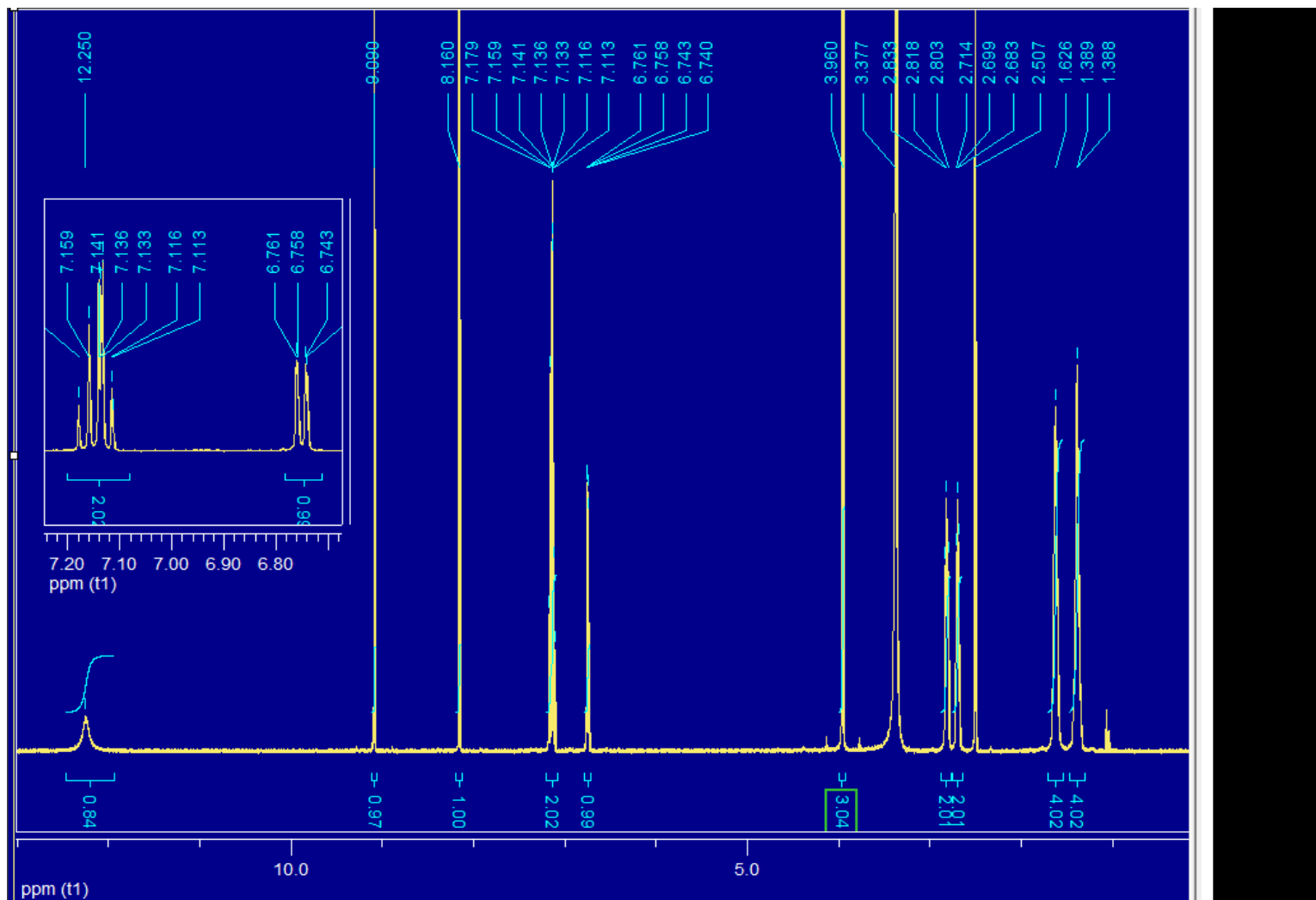
84		2-[(<i>E</i>)-[(1-etil-1H-indol-3-il)metilideno]amino]-4H,5H,6H,7H,8H,9H-cicloocta[<i>b</i>]tiofeno-3-carbonitrila
85		2-[(<i>E</i>)-{[1-(propan-2-il)-1H-indol-3-il]metilideno}amino]-4H,5H,6H,7H,8H,9H-cicloocta[<i>b</i>]tiofeno-3-carbonitrila
86		2-[(<i>E</i>)-[(1-metil-1H-indol-3-il)metilideno]amino]-4H,5H,6H,7H,8H,9H-cicloocta[<i>b</i>]tiofeno-3-carbonitrila
87		2-[(<i>E</i>)-[(2-cloro-1H-indol-3-il)metilideno]amino]-4H,5H,6H,7H,8H,9H-cicloocta[<i>b</i>]tiofeno-3-carbonitrila
88		3-[(1 <i>E</i>)-({3-ciano-4H,5H,6H,7H,8H,9H-cicloocta[<i>b</i>]tiofen-2-il}imino)metil]-1H-indol-4-ácido carboxílico
89		3-[(1 <i>E</i>)-({3-ciano-4H,5H,6H,7H,8H,9H-cicloocta[<i>b</i>]tiofen-2-il}imino)metil]-1H-indol-6-ácido carboxílico

90		3-[(1 <i>E</i>)-({3-ciano-4H,5H,6H,7H,8H,9H-cicloocta[<i>b</i>]tiofen-2-il}imino)metil]-1H-indol-1-carbonitrila
91		2-[(<i>E</i>)-[(6-flúor-1-metil-1H-indol-3-il)metilideno]amino]-4H,5H,6H,7H,8H,9H-cicloocta[<i>b</i>]tiofeno-3-carbonitrila
92		2-[(<i>E</i>)-[(6-metóxi-1H-indol-3-yl)metilideno]amino]-4H,5H,6H,7H,8H,9H-cicloocta[<i>b</i>]tiofeno-3-carbonitrila

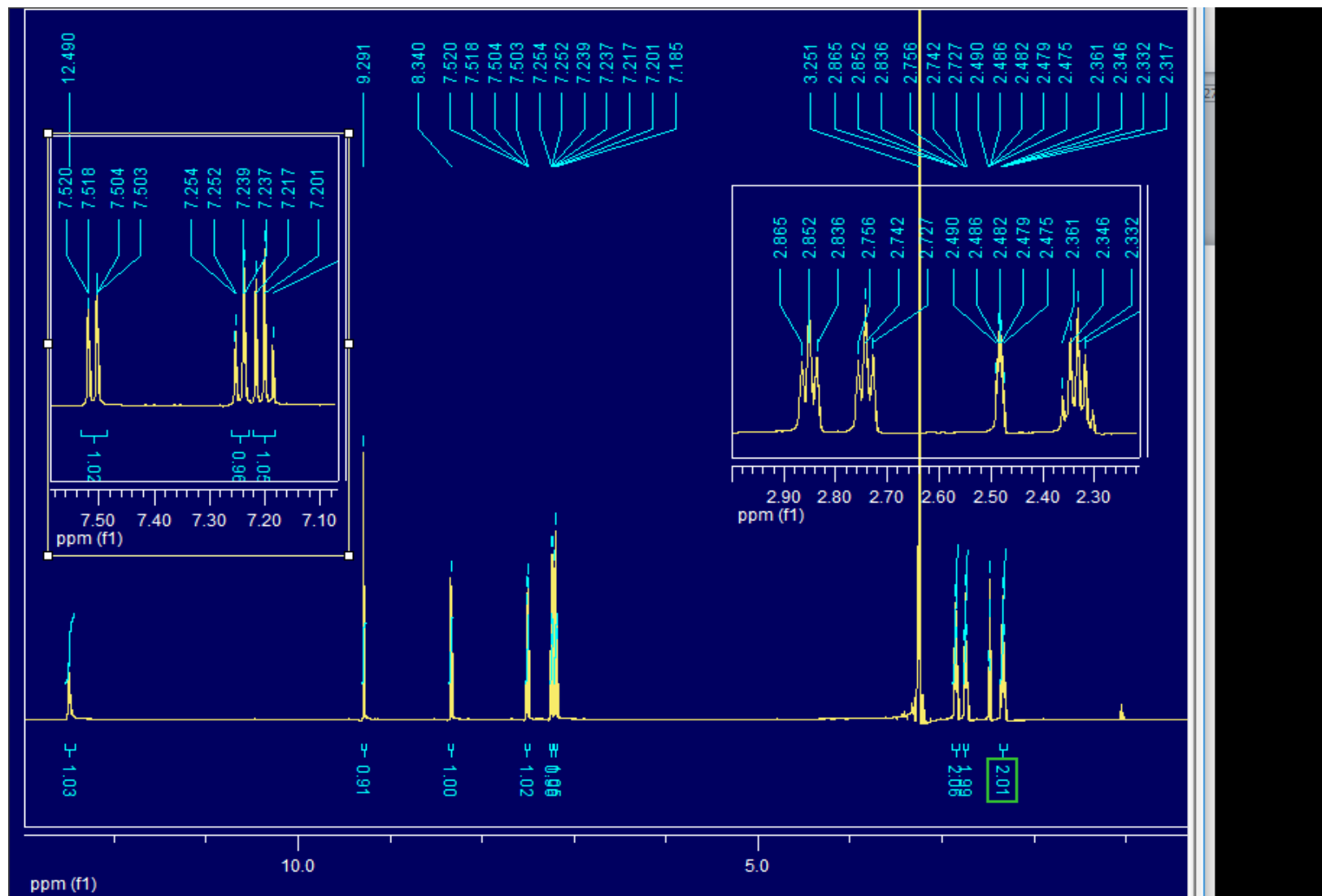
ANEXO II – Espectros

Espectros de RMN H^1

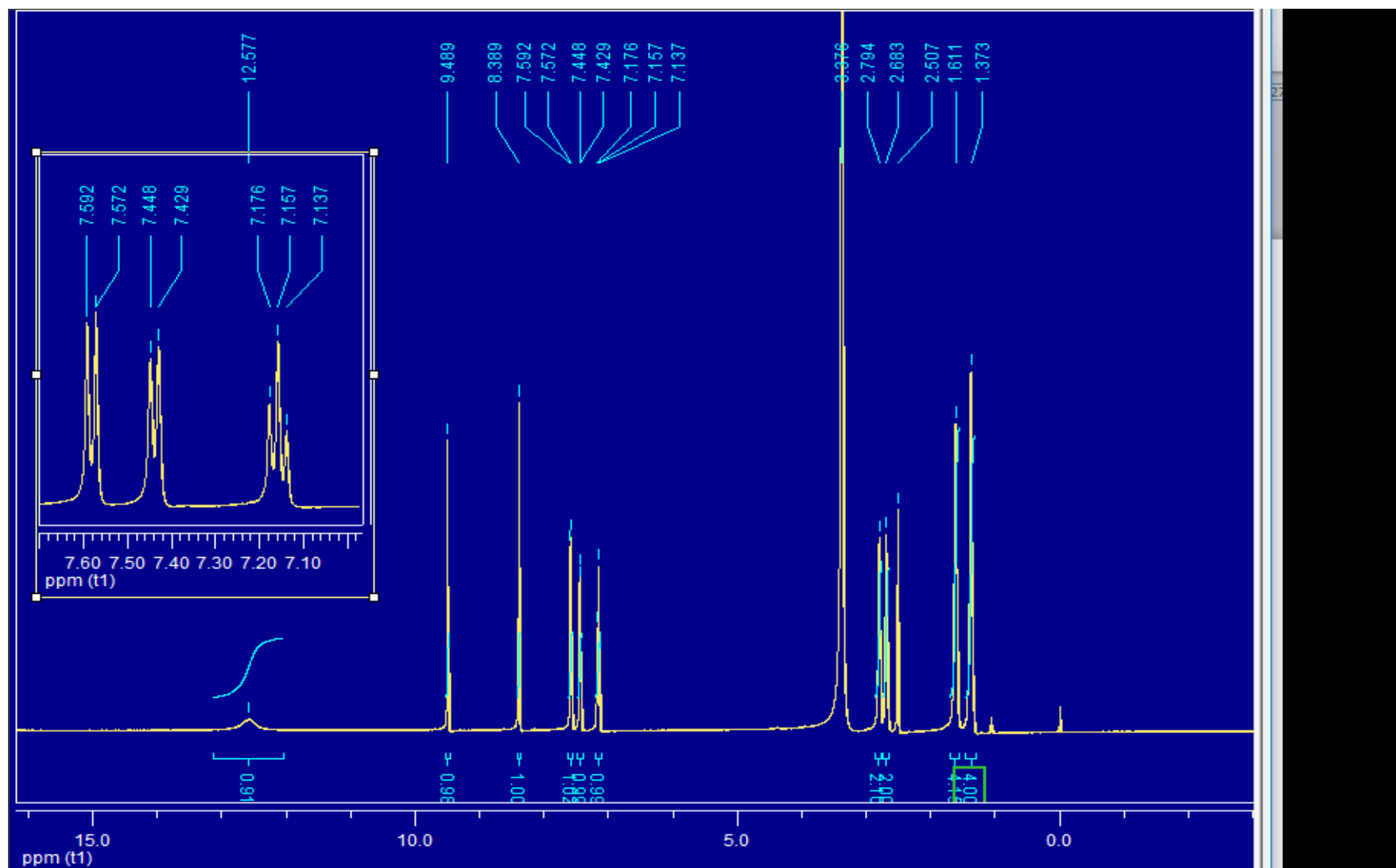
2 - (((4-metoxi-1H-indol-3-il) metileno) amino) -4,5,6,7,8,9-hexa-hidrocicloocta [b] tiofeno-3-carbonitrila (Composto 19)

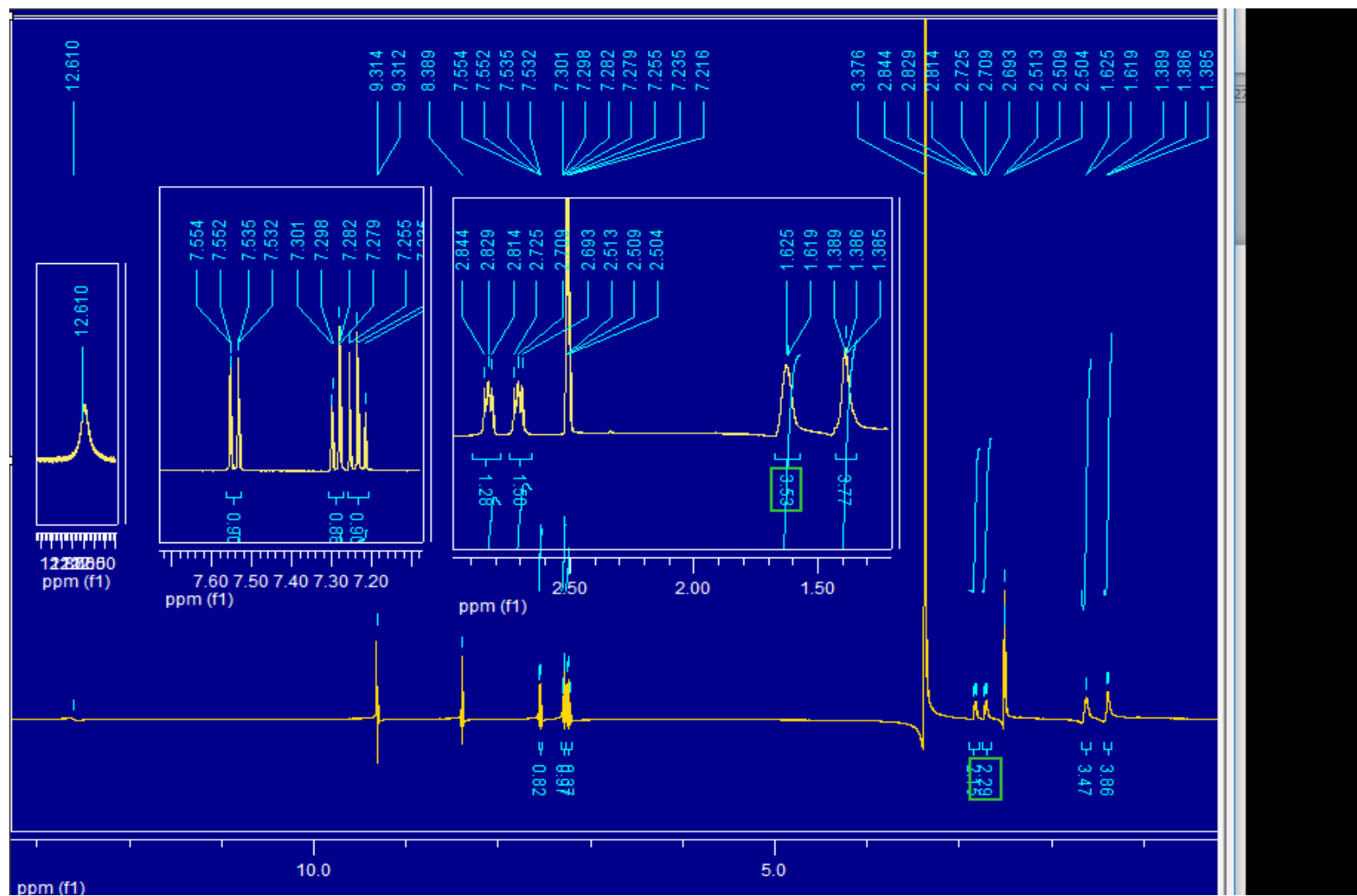


2 - (((4-cloro-1H-indol-3-il) metileno) amino) -5,6-di-hidro-4H-ciclopenta [b] tiofeno-3-carbonitrila (Composto 28)

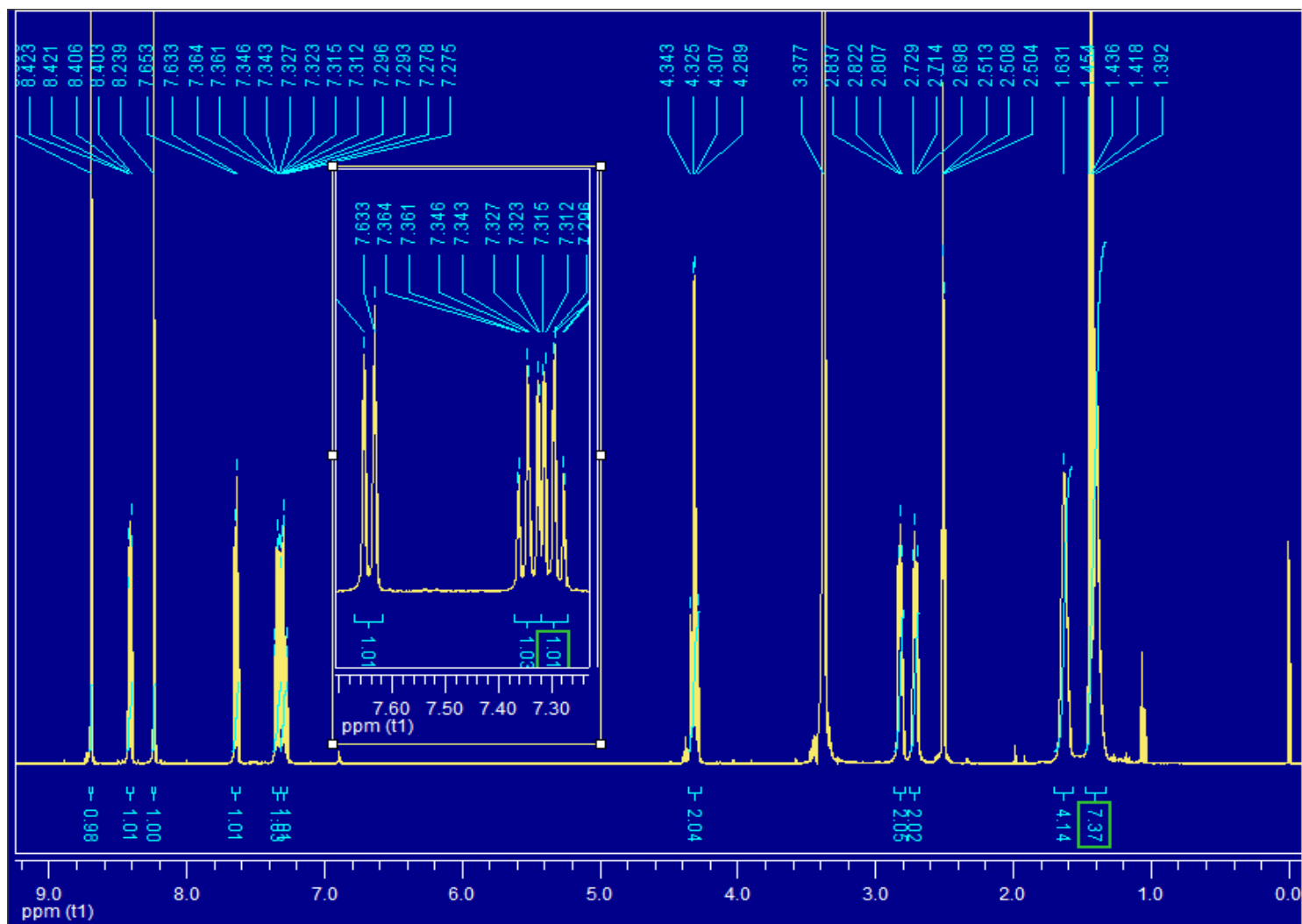


2 - (((4-bromo-1H-indol-3-yl) metileno) amino) -4,5,6,7,8,9-hexa-hidrocicloocta [b] tiofeno-3-carbonitrila (Composto 42)

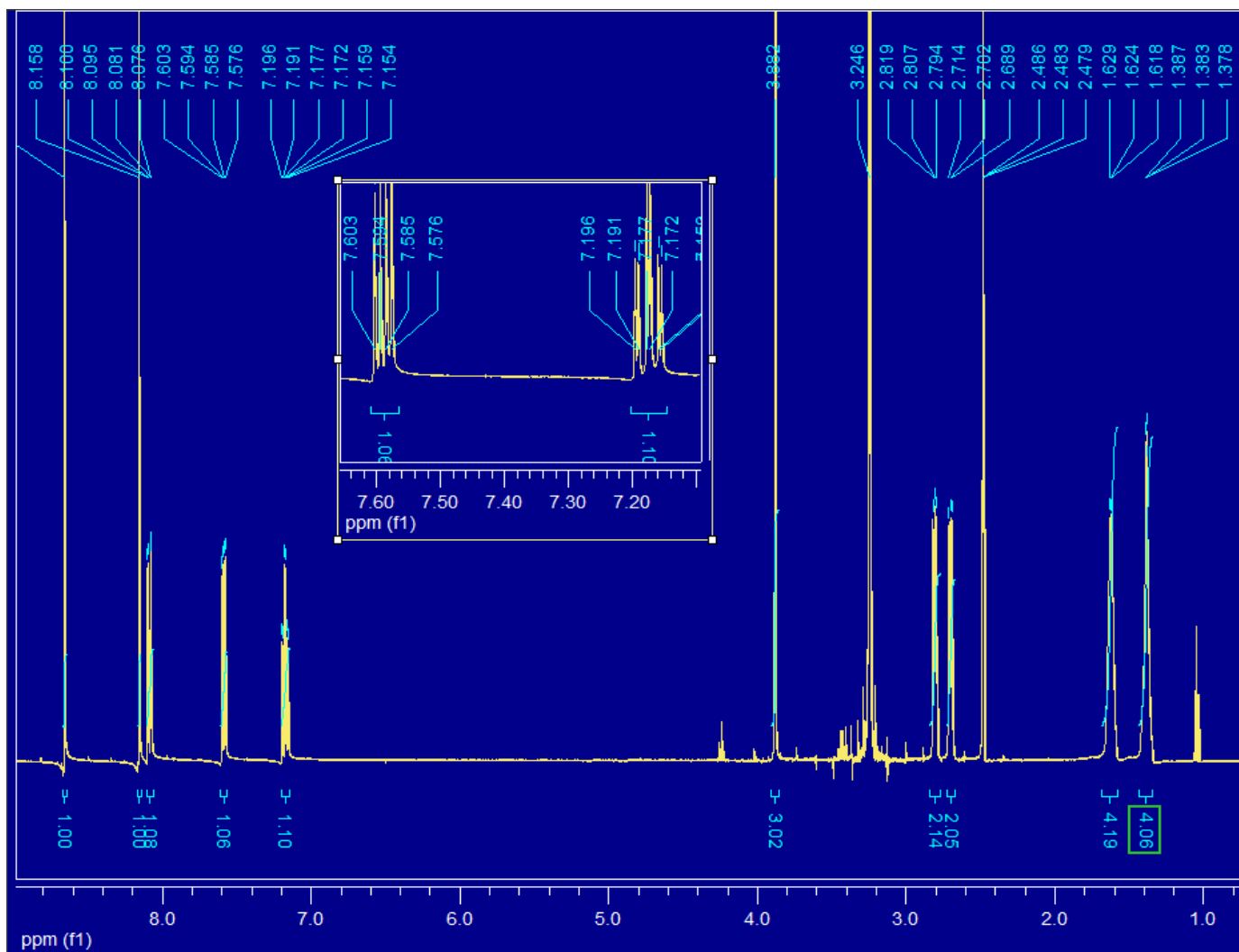




2 - (((1-etil-1H-indol-3-il) metileno) amino) -4,5,6,7,8,9-hexa-hidrocicloocta [b] tiofeno-3-carbonitrila (Composto **84**)

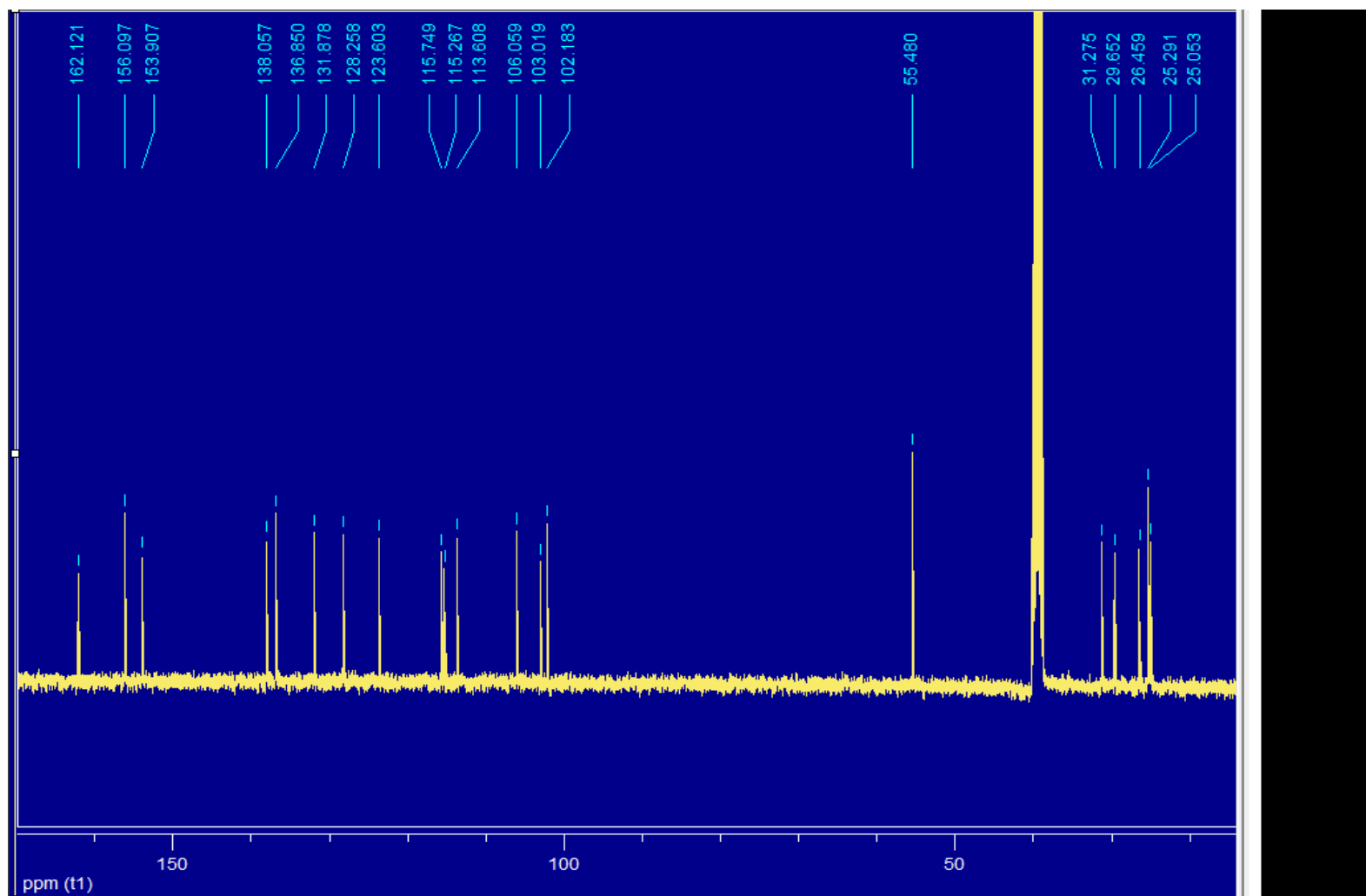


2 - (((6-fluor-1-metil-1H-indol-3-il) metileno) amino) -4,5,6,7,8,9-hexa-hidrocicloocta [b] tiofeno-3-carbonitrila (Composto **91**)

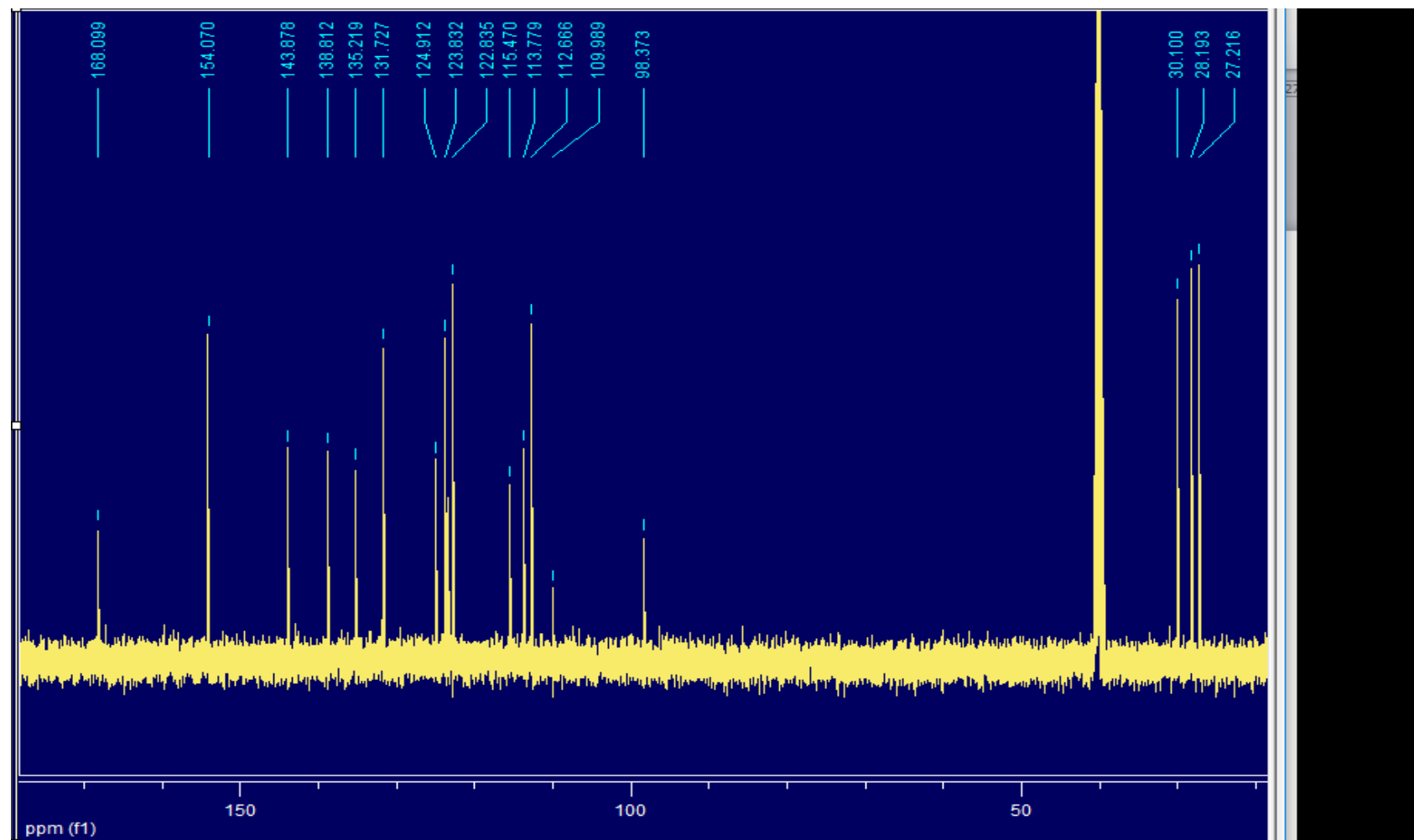


Espectros de RMN C¹³

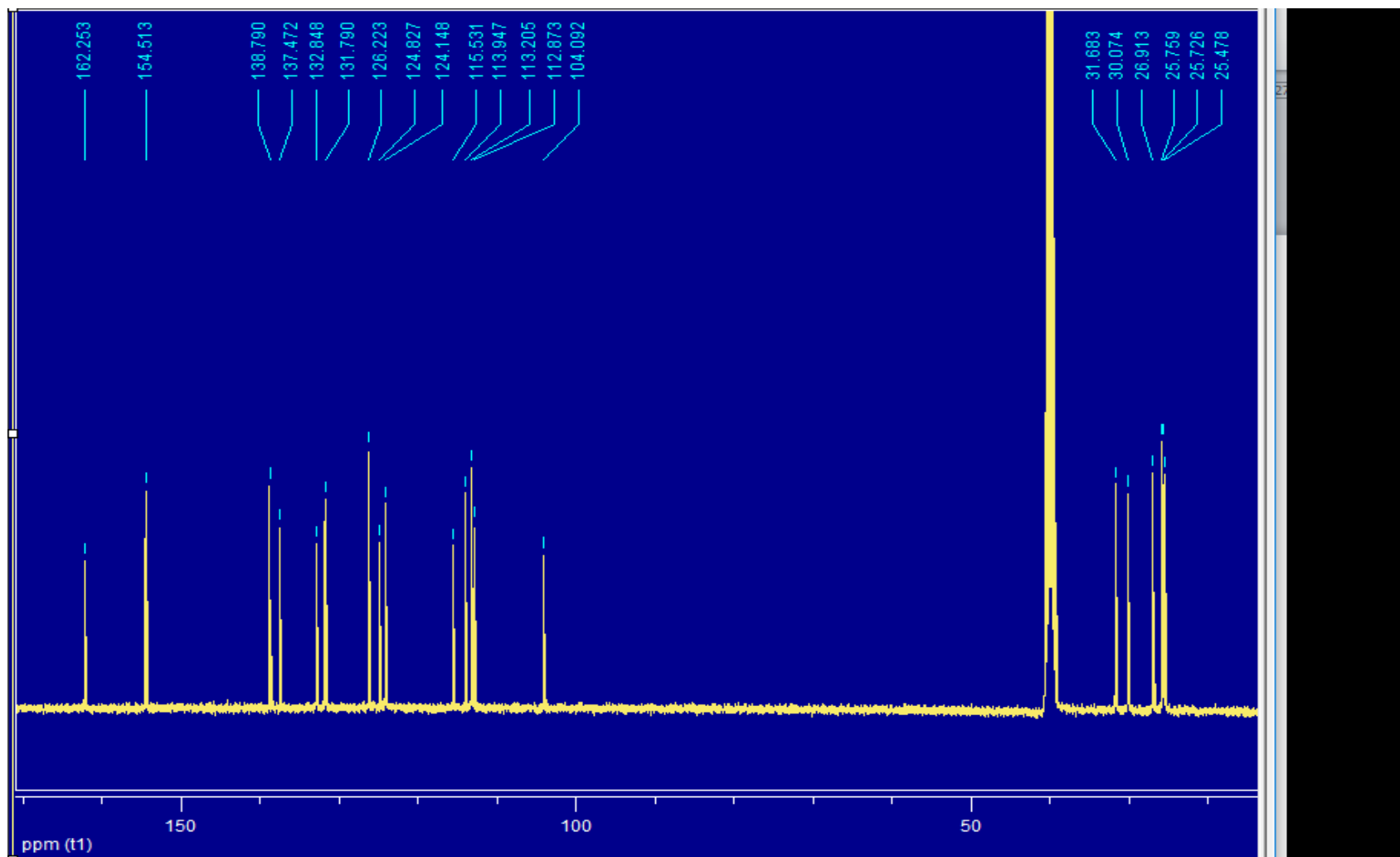
2 - (((4-metoxi-1H-indol-3-il) metileno) amino) -4,5,6,7,8,9-hexa-hidrocicloocta [b] tiofeno-3-carbonitrila (Composto **19**)



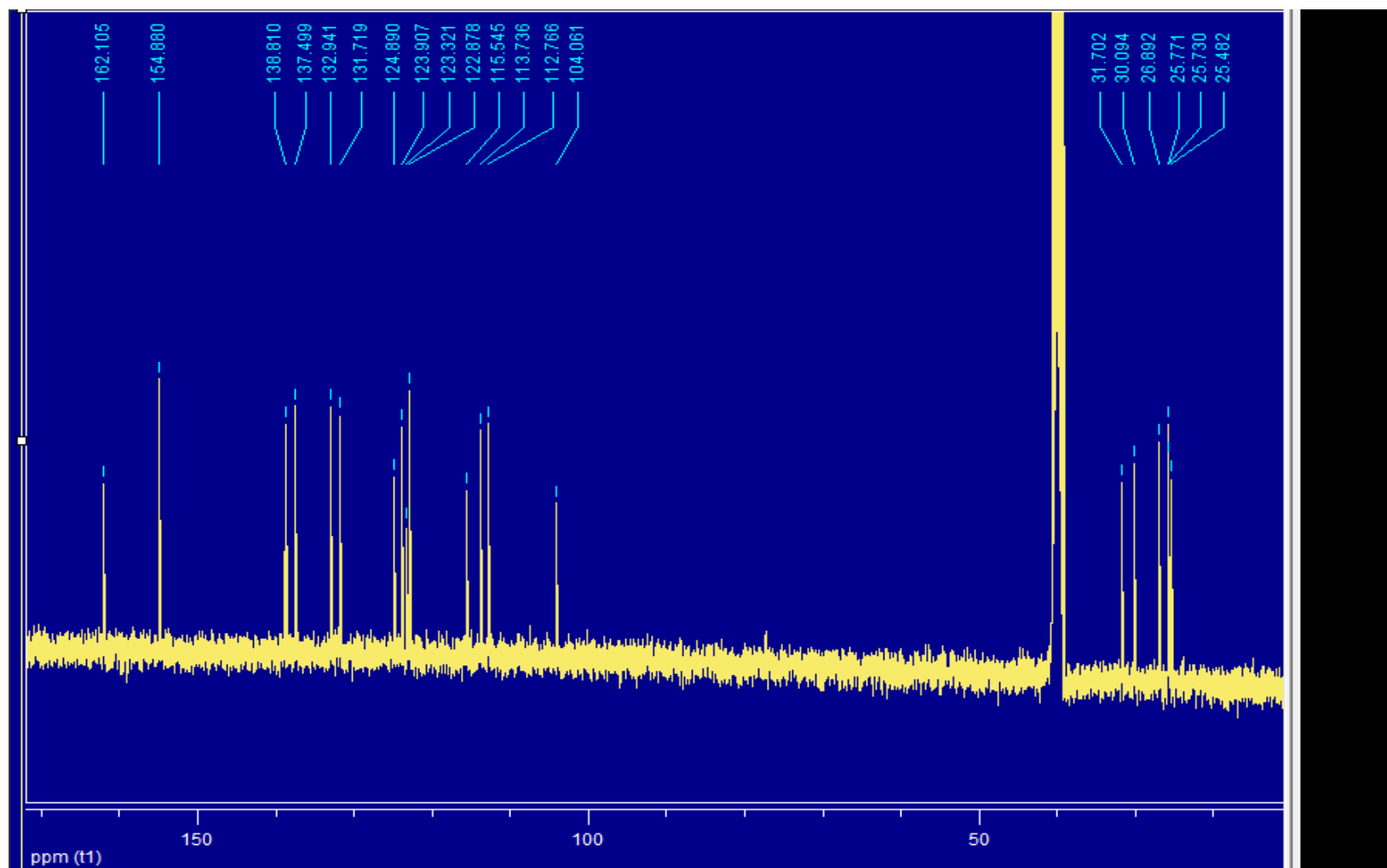
2 - (((4-cloro-1H-indol-3-il) metileno) amino) -5,6-di-hidro-4H-ciclopenta [b] tiofeno-3-carbonitrila (Composto 28)



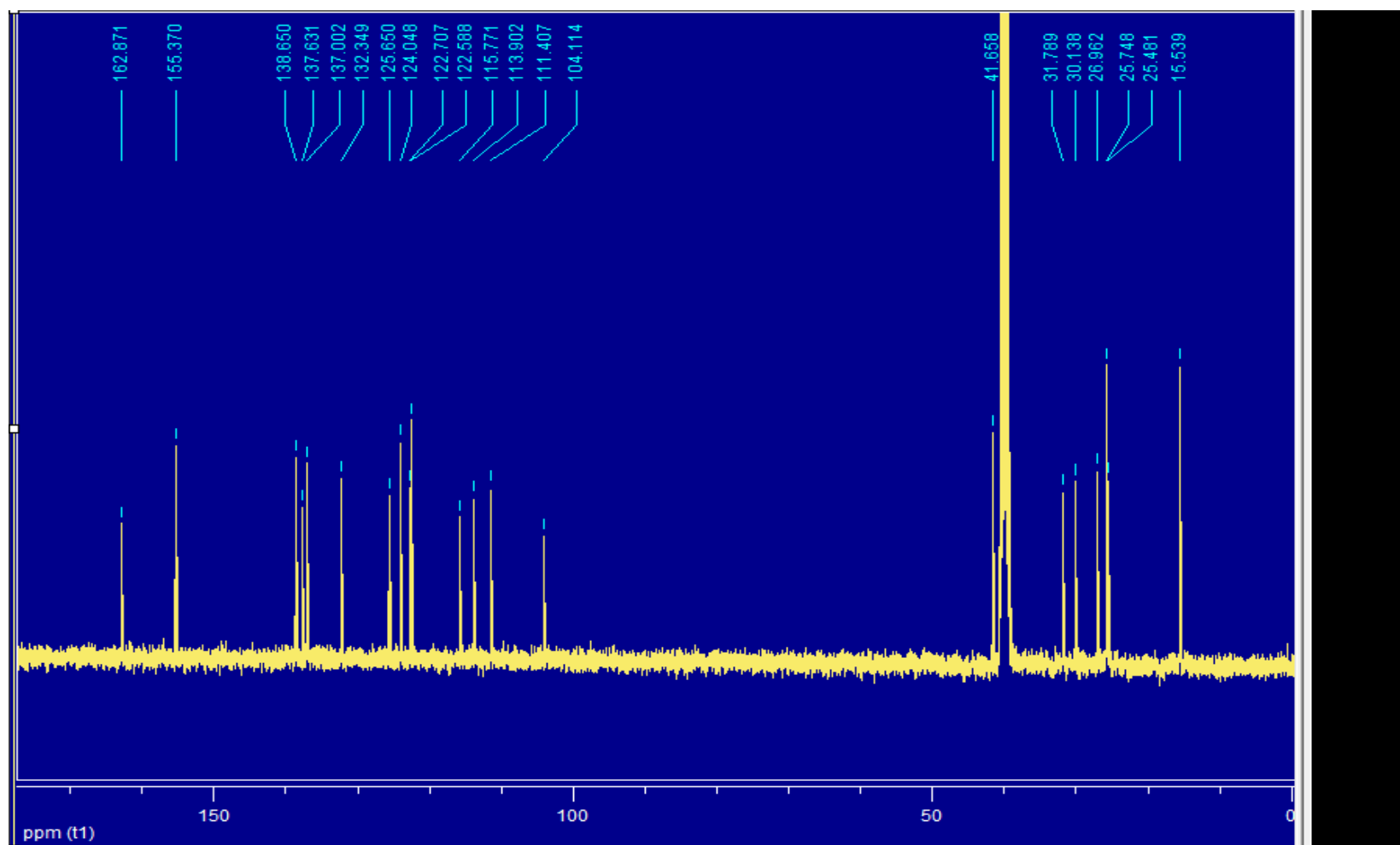
2 - (((4-bromo-1H-indol-3-il) metileno) amino) -4,5,6,7,8,9-hexa-hidrocicloocta [b] tiofeno-3-carbonitrila (Composto 42)



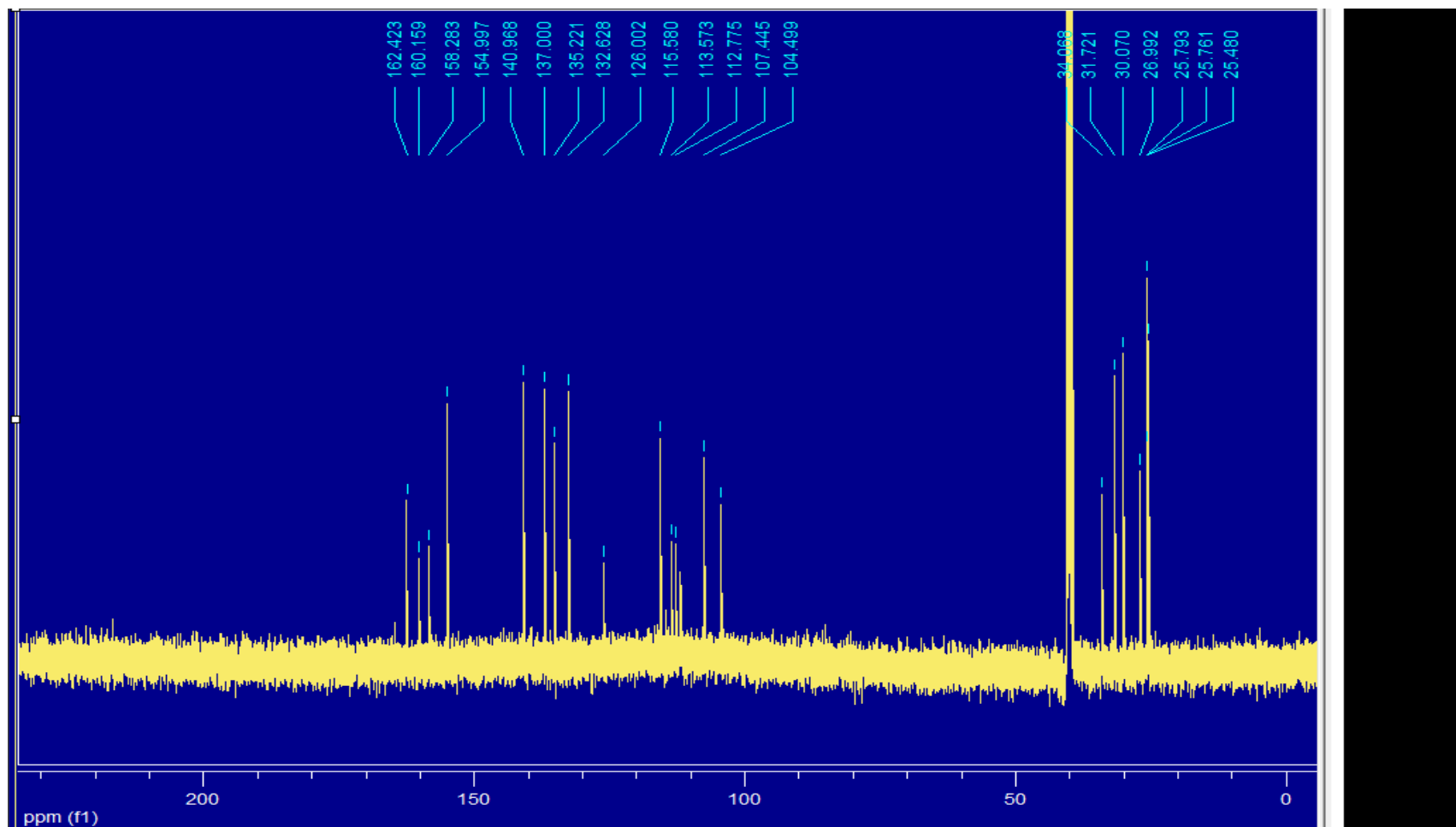
2 - (((4-cloro-1H-indol-3-il) metileno) amino) -4,5,6,7,8,9-hexa-hidrocicloocta [b] tiofeno-3-carbonitrila (Composto **43**)

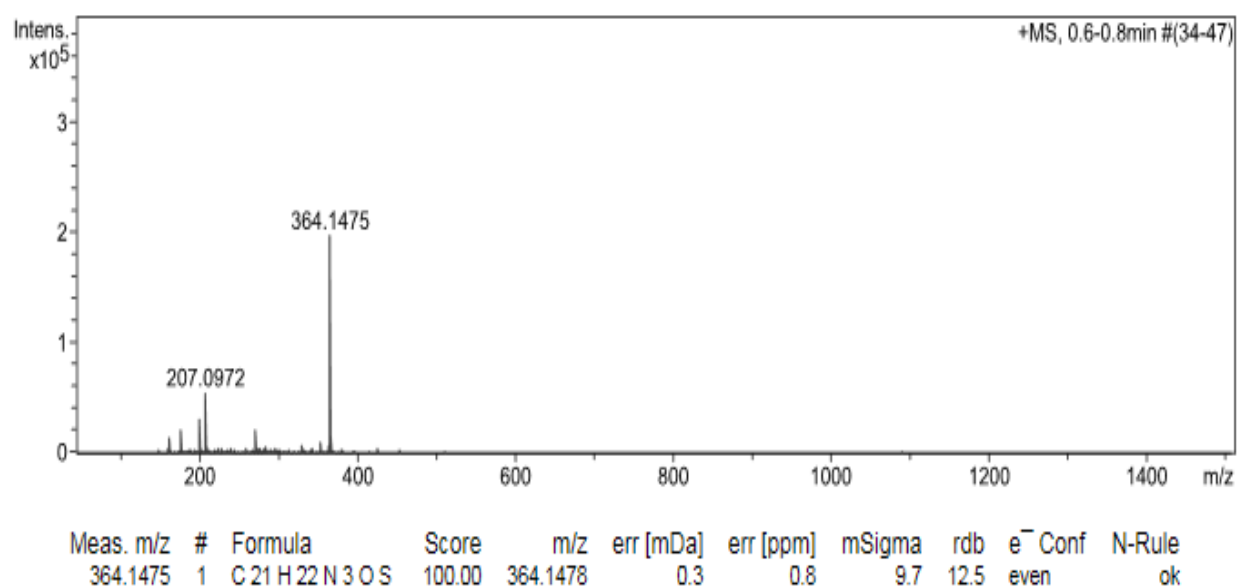
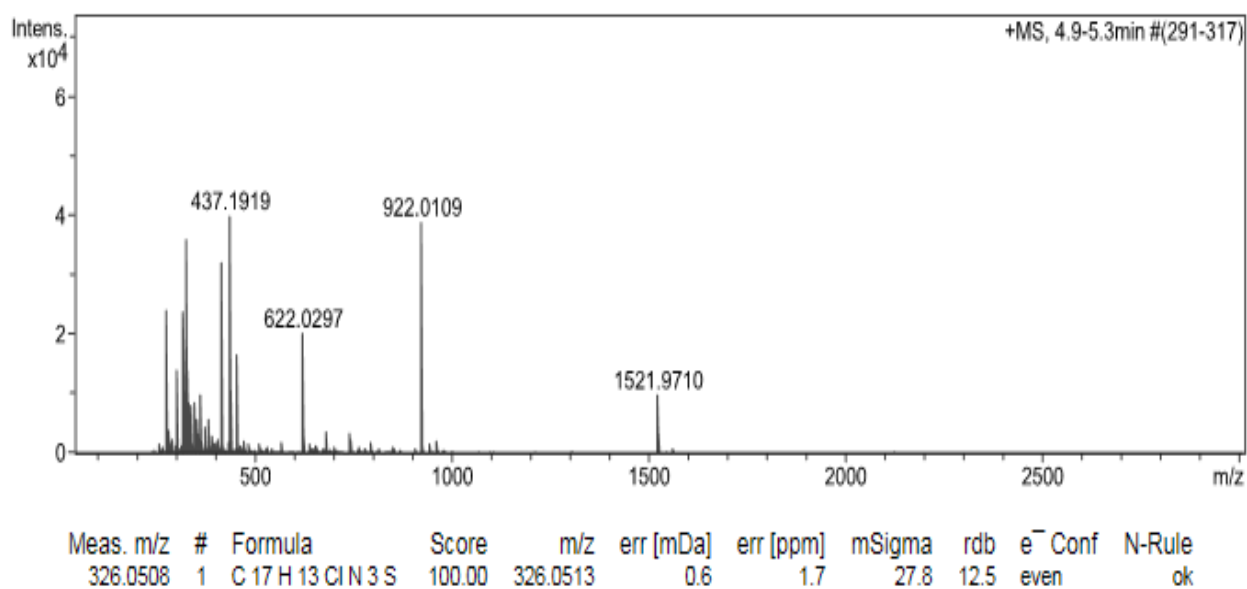


2 - (((1-etil-1H-indol-3-il) metileno) amino) -4,5,6,7,8,9-hexa-hidrocicloocta [b] tiofeno-3-carbonitrila (Composto **84**)

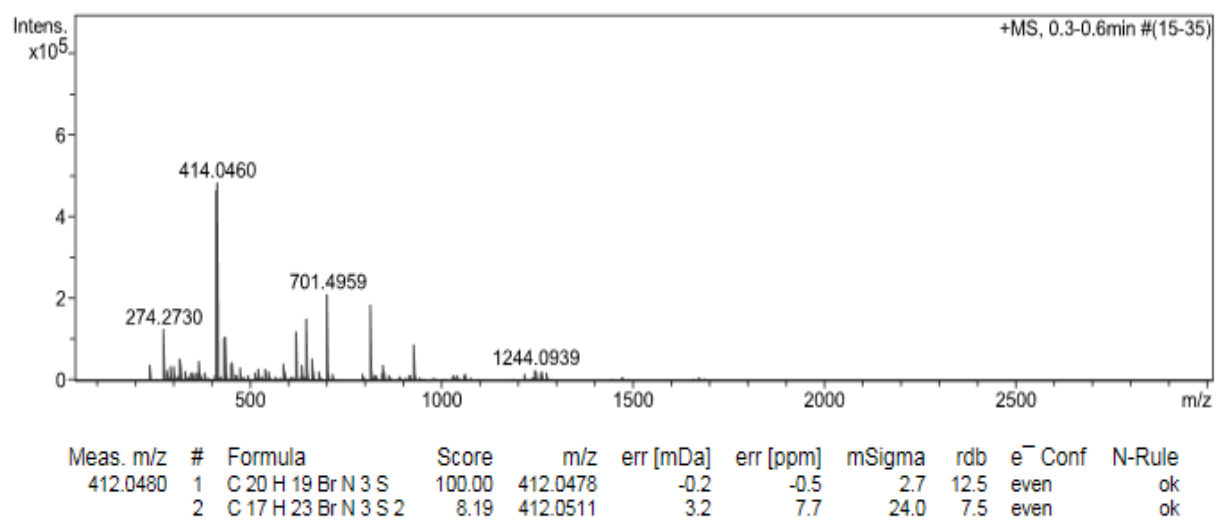


2 - (((6-flúor-1-metil-1H-indol-3-il) metileno) amino) -4,5,6,7,8,9-hexa-hidrocicloocta [b] tiofeno-3-carbonitrila (Composto **91**)

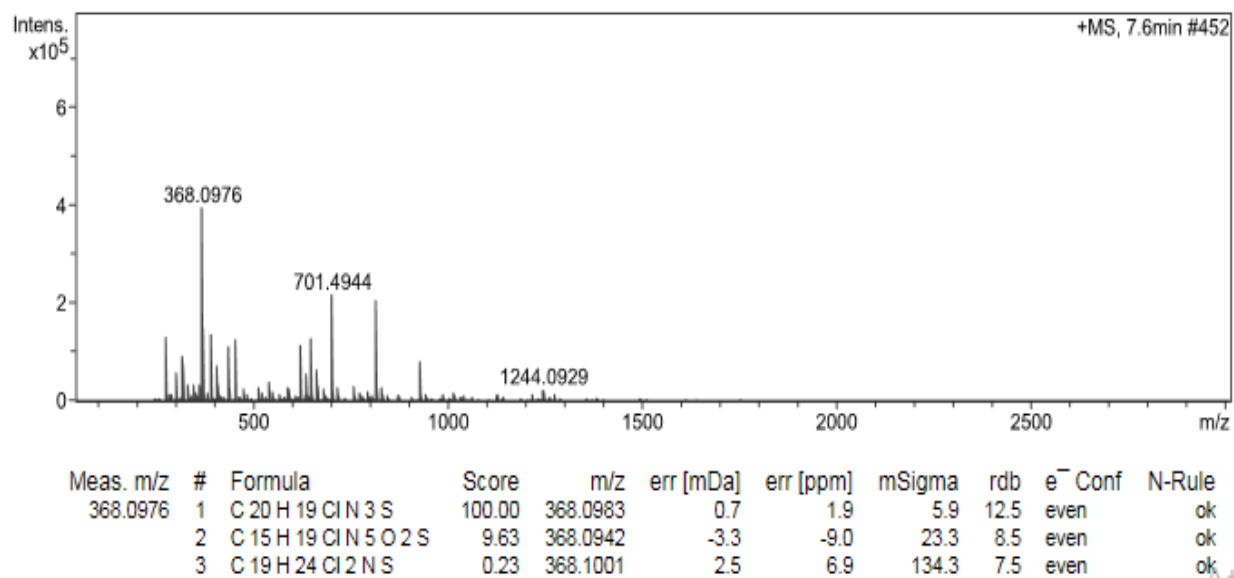


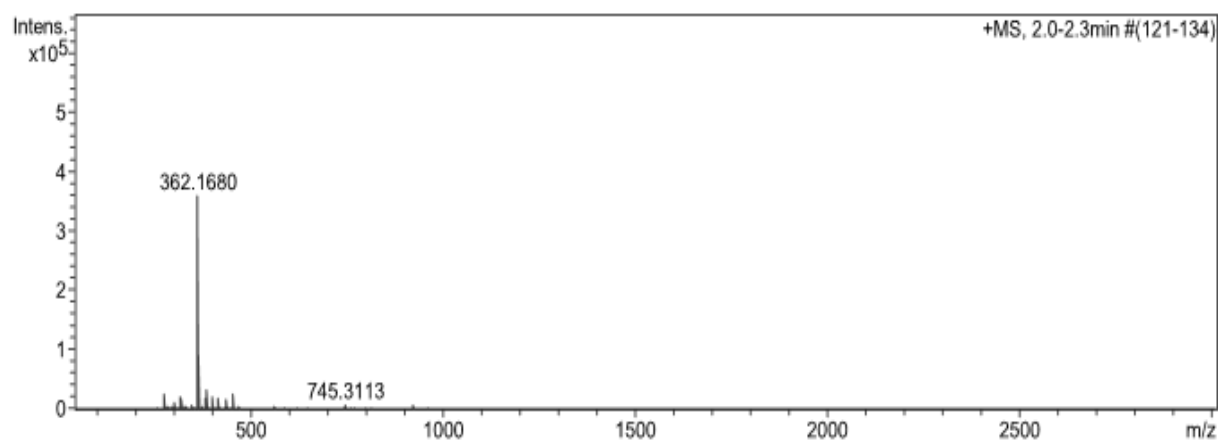
HRMS Composto **19**HRMS Composto **28**

HRMS Composto 42

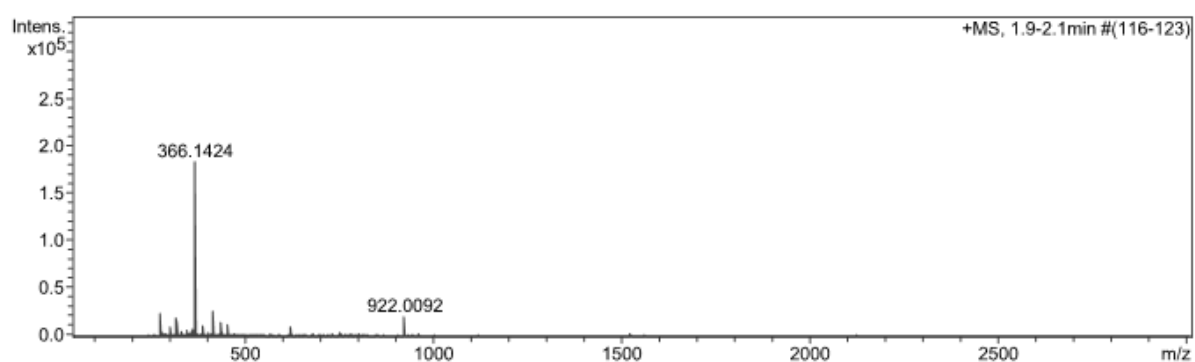


HRMS do composto 43



HRMS Composto **84**

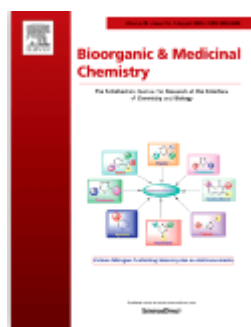
Meas. m/z	#	Formula	Score	m/z	err [mDa]	err [ppm]	mSigma	rdB	e ⁻ Conf	N-Rule
362.1680	1	C ₂₂ H ₂₄ N ₃ S	100.00	362.1685	0.6	1.6	1.6	12.5	even	ok
	2	C ₁₇ H ₂₄ N ₅ O ₂ S	7.20	362.1645	-3.4	-9.5	23.3	8.5	even	ok

HRMS Composto **91**

Meas. m/z	#	Formula	Score	m/z	err [mDa]	err [ppm]	mSigma	rdB	e ⁻ Conf	N-Rule
366.1424	1	C ₂₁ H ₂₁ FN ₃ S	100.00	366.1435	1.0	2.8	2.9	12.5	even	ok
	2	C ₁₈ H ₂₂ F ₂ N ₃ O ₂ S	34.15	366.1446	2.2	5.9	18.4	8.5	even	ok
	3	C ₁₆ H ₂₁ FN ₅ O ₂ S	14.21	366.1395	-3.0	-8.2	25.2	8.5	even	ok

Ati

ANEXO III - PRODUÇÃO ACADÊMICA DURANTE O DOUTORADO



Fator de impacto: **3.073**

FÉLIX, M.B.; DE SOUZA, E. R.; DE LIMA, M.C.A.; FRADE, D. K. G.; SERAFIM, V. L.; RODRIGUES, K. A. F.; NÉRIS, P.L.N.; RIBEIRO, F.F.; SCOTTI, L.; SCOTTI, M.T.; DE AQUINO, T.M.; MENDONÇA JUNIOR, F.J.B.; DE OLIVEIRA, M.R. Antileishmanial activity of new thiophene-indole hybrids: Design, synthesis, biological and cytotoxic evaluation, and chemometric studies. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. v.24, p.3972 - 3977, 2016.

Bioorganic & Medicinal Chemistry 24 (2016) 3972–3977

Contents lists available at [ScienceDirect](http://ScienceDirect.com)

Bioorganic & Medicinal Chemistry

journal homepage: www.elsevier.com/locate/bmc

Antileishmanial activity of new thiophene–indole hybrids: Design, synthesis, biological and cytotoxic evaluation, and chemometric studies

Mayara B. Félix^a, Edson R. de Souza^b, Maria do C. A. de Lima^b, Daiana Karla G. Frade^a, Vanessa de L. Serafim^a, Klínger Antonio da F. Rodrigues^c, Patrícia Lima do N. Nêris^c, Frederico F. Ribeiro^d, Luciana Scotti^e, Marcus T. Scotti^c, Thiago M. de Aquino^f, Francisco Jaime B. Mendonça Junior^g, Márcia R. de Oliveira^{a,*}

^a Departamento de Biologia Molecular, Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Universidade Federal do Piauí, Campus I, Castelo Branco, João Pessoa, Paraíba CEP 58059-900, Brazil
^b Departamento de Análises, Universidade Federal do Piauí, Campus I, CEP 58059-900, Brazil
^c Programa de Pós-Graduação em Produção Plântula e Sementes, Universidade Federal do Piauí, João Pessoa, Paraíba CEP 58059-900, Brazil
^d Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica, Universidade Federal do Piauí, Campus I, CEP 58059-900, Brazil
^e Federal University of Paraíba, Campus I, João Pessoa, PB 58051-970, Brazil
^f Instituto de Química e Biocatalisadores, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, AL 57072-500, Brazil
^g Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual do Piauí, CCRSA, João Pessoa, PB 58059-540, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:
Received 23 February 2016
Revised 19 April 2016
Accepted 26 April 2016
Available online 26 April 2016

Keywords:
Leishmaniasis
Leishmania amazonensis
Cytotoxicity
2-Aminothiophene
Indole
Chemometric studies

ABSTRACT

In the present work, thirty-two hybrid compounds containing cycloalkyl[thiophene and indole moieties (TNS, TNS 1–7, TNS 1–2, TNS 1–7, TNS 1–7, TNS 1–7, TNS 1–7) were designed, synthesized and evaluated for their cytotoxic and antileishmanial activity against *Leishmania amazonensis* promastigotes. More than half of the compounds (18 compounds) exhibited significant antileishmanial activity (IC₅₀ lower than 10.0 µg/L), showing better performance than the reference drugs (tri- and penta-valent antimonials). The most active compounds were TNS-2, TNS-1 and TNS-7 with respective IC₅₀ values of 2.1, 2.3 and 3.2 µg/mL. Demonstrating that all of the compounds were less toxic than the reference drugs, even at the highest evaluated concentration (400 µg/mL), no compound tested presented human erythrocyte cytotoxicity. Compound TNS-7's effectiveness against a trivalent antimony-resistant culture was demonstrated. It was observed that TNS-7's antileishmanial activity is associated with DNA fragmentation of *L. amazonensis* promastigotes. Chemometric studies (CPCA, PCA, and PLS) highlight intrinsic solubility/lipophilicity, and compound size and shape as closely related to activity. Our results suggest that hybrid cycloalkyl[thiophene–indole derivatives may be considered as lead compounds for further development of new drugs for the treatment of leishmaniasis.

© 2016 Elsevier Ltd. All rights reserved.



Fator de impacto: 2.960

ALVES, M. F. ; SCOTTI, M. T. ; FÉLIX, M. B. ; ISHIKI, H. M. ; MENDONCA JUNIOR, F. J. B. ; RIBEIRO, F. F. ; TAVARES, J. F. ; B. FILHO, J. M. ; OLIVEIRA, K. M. ; PAULA, A. F. R. ; SCOTTI, L. ; PAZ, A. R. ; SANTOS, S. G. ; DINIZ, M. F. F. M. . *In silico* and *In vivo* Toxicological Evaluation of *Cissampelos Sympodialis* Secondary Metabolites in *Rattus Norvegicus*. **Current drug metabolism** , v. 18, p. 1, 2017.

Current Drug Metabolism, 2017, 18, 566-576

REVIEW ARTICLE



In silico and *In vivo* Toxicological Evaluation of *Cissampelos Sympodialis* Secondary Metabolites in *Rattus Norvegicus*

Mateus F. Alves¹, Marcus T. Scotti¹, Mayara B. Felix¹, Hamilton M. Ishiki², Cinthia Rodrigues Melo¹, Frederico F. Ribeiro³, Josean F. Tavares¹, José M. B. Filho¹, Kardilândia M. de Oliveira¹, Andrea F. R. de Paula¹, Francisco J. B. Mendonça Jr.⁴, Luciana Scotti^{1*}, Alexandre R. da Paz¹, Sócrates G. dos Santos¹ and Margareth de F. F. M. Diniz¹

¹Federal University of Paraíba, João Pessoa - PB, Brazil; ²University of Western São Paulo (Unoeste), Presidente Prudente, SP, Brazil; ³Federal University of Pernambuco, Campus I, Recife-PE, Brazil; ⁴State University of Paraíba, Biological Science Department, Laboratory of Synthesis and Drug Delivery, 58070-450, João Pessoa-PB, Brazil

ARTICLE HISTORY

Received: October 22, 2016
Revised: February 10, 2017
Accepted: February 12, 2017

DOI:
10.2174/1389200218666170301110806

Abstract: *Cissampelos sympodialis* is a plant in northeastern Brazil used by the populace for treating respiratory diseases. Several studies have shown that ethanol leaf extracts have immunomodulatory and anti-inflammatory activities. Infusions are widely used, popular, and an ancient technique in traditional medicine, using hot water alone as the means of extraction. This study aimed to investigate acute toxicological potential of leaf infusions of *Cissampelos sympodialis*, when applied orally at a dose of 2000mg/kg to *Rattus norvegicus*, combined with an *in silico* study of 117 alkaloids present in the *Cissampelos* genus; five (5) of which were determined to have high toxicity (21, 8, 93, 32 and 88), and five (5) having both low toxicity (57, 77, 28, 25 and 67) and low liver metabolism. The *in vivo* toxicological evaluation showed that male water consumption decreased, and the feed intake decreased in both sexes. Yet, the figures as to change in weight gain of the animals were not statistically sufficient. As for the biochemical parameters, there was an increase in urea, and decreases in uric acid and AST in males. In females, there was a decrease in albumin and globulin which consequently leads to a total protein decrease. Despite biochemical changes suggestive of kidney damage, the histological sections revealed no kidney or liver changes. The results therefore indicate that despite presenting alkaloids which may be toxic, the genus *Cissampelos*, or leaf infusions of *Cissampelos sympodialis*, when applied orally at a dose of 2000mg/kg present low toxicity.

Keywords: *Cissampelos sympodialis*, acute toxicity, *in silico*, *in vivo*, infuse, Metasite, histopathological.



Fator de impacto: 2.158

ALVES, M. F.; FERREIRA, L. A. M. P.; GADELHA, F. A. A. F.; FERREIRA, L. K. D. P.; **FELIX, M. B.**; SCOTTI, M. T.; SCOTTI, L.; DE OLIVEIRA, K. M.; DOS SANTOS, S. G.; DINIZ, M. F. F. M. Toxicological evaluation *in silico* and *in vivo* of secondary metabolites of *Cissampelos sympodialis* in *Mus musculus* mice following inhalation. **Natural product Research**, v. 32, p. 1-7, 2017.

NATURAL PRODUCT RESEARCH
2019, VOL. 33, NO. 6, 789–795
<https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1410805>



Toxicological evaluation *in silico* and *in vivo* of secondary metabolites of *Cissampelos sympodialis* in *Mus musculus* mice following inhalation

Mateus Feitosa Alves^a, Larissa Adilis Maria Paiva Ferreira^a, Francisco Allysson Assis Ferreira Gadelha^a, Laércia Karla Diega Paiva Ferreira^a, Mayara Barbalho Felix^a, Marcus Tullius Scotti^a, Luciana Scotti^a, Kardilândia Mendes de Oliveira^b, Sócrates Golzio dos Santos^b and Margareth de Fátima Formiga Melo Diniz^a

^aPostgraduate Program in Natural and Synthetic Bioactive Products, Federal University of Paraíba, João Pessoa, Brazil; ^bInstituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos, Federal University of Paraíba, João Pessoa, Brazil

ABSTRACT

The ethanolic extract of the leaves of *Cissampelos sympodialis* showed great pharmacological potential, with inflammatory and immunomodulatory activities, however, it showed some toxicological effects. Therefore, this study aims to verify the toxicological potential of alkaloids of the genus *Cissampelos* through *in silico* methodologies, to develop a method in LC-MS/MS verifying the presence of alkaloids in the infusion and to evaluate the toxicity of the infusion of the leaves of *C. sympodialis* when inhaled by Swiss mice. Results *in silico* showed that alkaloid 93 presented high toxicological potential along with the products of its metabolism. LC-MS/MS results showed that the infusion of the leaves of this plant contained the alkaloids warifteine and methylwarifteine. Finally, the *in vivo* toxicological analysis of the *C. sympodialis* infusion showed results, both in biochemistry, organ weights and histological analysis, that the infusion of *C. sympodialis* leaves presents a low toxicity.

ARTICLE HISTORY

Received 11 September 2017
Accepted 14 November 2017

KEYWORDS

Cissampelos sympodialis;
toxicity; *in silico*; LC-MS/MS;
in vivo; inhalation; infuse



Fator de impacto: 0.550

VIANA, J. O.; FÉLIX, M.B.; MAIA, M.S.; SERAFIM, V.L.; SCOTTI, L.; SCOTTI, M. T. Drug discovery and design in the multitarget drugs era. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences (BJPS)**, v. 54, 2018.

BJPS

 Brazilian Journal of
Pharmaceutical Sciences

[http://dx.doi.org/ 10.1590/s2175-97902018000001010](http://dx.doi.org/10.1590/s2175-97902018000001010)

Drug discovery and computational strategies in the multitarget drugs era

Jéssika de Oliveira Viana¹, Mayara Barbalho Félix¹, Mayara dos Santos Maia¹,
Vanessa de Lima Serafim¹, Luciana Scotti¹, Marcus Tullius Scotti^{1*}

¹*Program of Natural and Synthetic Bioactive Products (PgPNSB), Health Sciences Center, Federal University of Paraíba, João Pessoa-PB, Brazil*

The pharmaceutical industry is increasingly joining chemoinformatics in the search for the development of new drugs to be used in the treatment of diseases. These computational studies have the advantage of being less expensive and optimize the study time, and thus the interest in this area is increasing. Among the techniques used is the development of multitarget directed ligands (MTDLs), which has become an ascending technique, mainly due to the improvement in the quality of treatment involving several drugs. Multitarget therapy is more effective than traditional drug therapy that emphasizes maximum selectivity for a single target. In this review a multitarget drug survey was carried out as a promising strategy in several important diseases: neglected diseases, neurodegenerative diseases, AIDS, and cancer. In addition, we discuss Computer-Aided Drug Design (CADD) techniques as a tool in the projection of multitarget compounds against these diseases.

Keywords: Drug design. Multitarget compounds. *In silico*. Diseases.



Fator de impacto: 2.548

SERAFIM, V.L.; FÉLIX, M.B.; FRADE, D.K.G.; RODRIGUES, K. A. F.; NÉRIS, P.L.N.; ALMEIDA, S.M.V.; SANTOS, S. A.; OLIVEIRA, J. F. ; LIMA, M. C. A. ; MENDONÇA-JUNIOR, F.J.B.; SCOTTI, M.T. ; OLIVEIRA, M. R. ; MOURA, R. O. . New Thiophene-Acridine Compounds: Synthesis, Antileishmanial Activity, DNA Binding, Chemometric and Molecular Docking Studies Journal: Chemical Biology & Drug Design. **Chemical biology & drug design** , 2018

Received: 3 October 2017 | Revised: 24 December 2017 | Accepted: 20 January 2018

DOI: 10.1111/cbdd.13176



RESEARCH ARTICLE

WILEY

New thiophene–acridine compounds: Synthesis, antileishmanial activity, DNA binding, chemometric, and molecular docking studies

Vanessa de Lima Serafim^{1,2} | Mayara Barbalho Félix^{1,2} | Daiana Karla Frade Silva^{1,2} | Klinger Antônio da Franca Rodrigues^{1,2} | Patrícia Nêris Andrade^{1,2} | Sinara Mônica Vitalino de Almeida³ | Sanderssonilo de Albuquerque dos Santos⁴ | Jamerson Ferreira de Oliveira⁴ | Maria do Carmo Alves de Lima⁴ | Francisco Jaime Bezerra Mendonça-Junior^{2,5} | Marcus Tullius Scotti² | Márcia Rosa de Oliveira¹ | Ricardo Olímpio de Moura^{5,6}

¹Laboratório de Leishmanioses, Departamento de Biologia Molecular, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB, Brazil

²Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Paraíba, Brazil

³Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA), Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, Brazil

⁴Laboratório de Química e Inovação Terapêutica (LQIT), Departamento de Antibióticos, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, Brazil

⁵Laboratório de Síntese e Vetorização de Moléculas, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual da Paraíba, João Pessoa, PB, Brazil

⁶Departamento de Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Estadual da Paraíba - Bodocongó, Campina Grande, PB, Brazil



Fator de impacto: 2.049

CAVALCANTI, E.L.V.S.; FÉLIX, M.B.; SCOTTI, L.; SCOTTI, M.T. Virtual screening of natural products to select compounds with potential anticancer activity. **Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry**, v. 19, p.154-171, 2019.

154

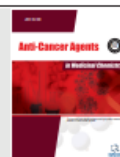
Send Orders for Reprints to reprints@benthamscience.net

Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry, 2019, 19, 154-171



REVIEW ARTICLE

Virtual Screening of Natural Products to Select Compounds with Potential Anticancer Activity



Élida B.V.S. Cavalcanti, Mayara B. Félix, Luciana Scotti and Marcus T. Scotti*

Program of Natural and Synthetic Bioactive Products (PgPNSB), Health Sciences Center, Federal University of Paraíba, 58051-900, João Pessoa-PB, Brazil

ARTICLE HISTORY

Received: June 19, 2017
Revised: September 29, 2017
Accepted: March 21, 2018

DOI:
10.2174/1871520618666181119110934



CrossMark

Abstract: Cancer is the main cause of death, so the search for active agents to be used in the therapy of this disease, is necessary. According to studies conducted, substances derived from natural products have shown to be promising in this endeavor. To these researches, one can associate with the aid of computational chemistry, which is increasingly gaining popularity, due to the possibility of developing alternative strategies that could help in choosing an appropriate set of compounds, avoiding unnecessary expenses with resources that would generate unwanted substance. Thus, the objective of this study was to carry out an approach to several studies that apply different methods of virtual screening to select natural products with potential anticancer activity. This review presents reports of studies conducted with some natural products, such as coumarin, quinone, tannins, alkaloids, flavonoids and terpenes.

Keywords: Cancer, natural products, virtual screening, secondary metabolites, potential anticancer activity, computational chemistry.



Fator de Impacto: 3.218

FÉLIX, M.B.; DE ARAÚJO, R.S.A.; BARROS, R.P.C.; DE SIMONE, C.A.; RODRIGUES, R.R.L.; NUNES, T.A.L.; RODRIGUES, K.A.F.; MENDONÇA JÚNIOR, F.J.B.; MURATOV, E.; SCOTTI, L.; SCOTTI, M.T. Computer-Assisted Design of Thiophene-Indole Hybrids as Leishmanial Agents. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, v.20, p. 1700 – 1715, 2020.

Send Orders for Reprints to reprints@benthamscience.net

1700

Current Topics in Medicinal Chemistry, 2020, 20, 1700-1715

RESEARCH ARTICLE

Computer-Assisted Design of Thiophene-Indole Hybrids as Leishmanial Agents

Mayara Barbalho Félix¹, Rodrigo Santos Aquino de Araújo², Renata Priscila Costa Barros¹, Carlos Alberto de Simone³, Raiza Raianne Luz Rodrigues⁴, Thaís Amanda de Lima Nunes⁴, Klinger Antonio da Franca Rodrigues⁴, Francisco Jaime Bezerra Mendonça Junior^{1,2}, Eugene Muratov⁵, Luciana Scotti¹ and Marcus Tullius Scotti^{1,*}

¹Post-Graduation Program in Natural and Synthetic Bioactive Products, Federal University of Paraíba, João Pessoa/PB, 58051-900, Brazil; ²Laboratory of Synthesis and Drug Delivery, State University of Paraíba, João Pessoa/PB, 58071-160, Brazil; ³Departamento de Física e Informática, Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo - USP, 13560-970 São Carlos/SP, Brazil; ⁴Laboratório de Doenças Infecciosas, Campus Ministro Reis Velloso, Universidade Federal do Delta do Parnaíba, 64202-020, Parnaíba, PI, Brazil; ⁵Laboratory for Molecular Modeling, Division of Chemical Biology and Medicinal Chemistry, Eshelman School of Pharmacy, University of North Carolina, Chapel Hill, NC, 27599, USA

Abstract: Background: Chemoinformatics has several applications in the field of drug design, helping to identify new compounds against a range of ailments. Among these are Leishmaniasis, effective treatments for which are currently limited.

Objective: To construct new indole 2-aminothiophene molecules using computational tools and to test their effectiveness against *Leishmania amazonensis* (sp.).

Methods: Based on the chemical structure of thiophene-indol hybrids, we built regression models and performed molecular docking, and used these data as bases for design of 92 new molecules with predicted pIC₅₀ and molecular docking. Among these, six compounds were selected for the synthesis and to perform biological assays (leishmanicidal activity and cytotoxicity).

Results: The prediction models and docking allowed inference of characteristics that could have positive influences on the leishmanicidal activity of the planned compounds. Six compounds were synthesized, one-third of which showed promising antileishmanial activities, with IC₅₀ ranging from 2.16 and 2.97 μM (against promastigote forms) and 0.9 and 1.71 μM (against amastigote forms), with selectivity in

ARTICLE HISTORY

Received: October 21, 2019
Revised: December 01, 2019
Accepted: December 15, 2019

DOI:
10.2174/1568026520666200616142120