

RODRIGO FERREIRA LUIZ

Estudos computacionais e síntese de derivados ftalimídicos como potenciais inibidores do citocromo bc1, visando atividade antimalárica.

Dissertação apresentada ao Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química.

Orientador: Nailton Monteiro do Nascimento Júnior

Co-orientador: Gustavo Claro Monteiro

ARARAQUARA

2025

L953e	Luiz, Rodrigo Ferreira Estudos computacionais e síntese de derivados ftalimídicos como potenciais inibidores do citocromo bc1, visando atividade antimalárica. / Rodrigo Ferreira Luiz. -- , 2025 148 p. : il., tabs., fotos Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Química, Araraquara, Orientador: Nailton Monteiro do Nascimento Júnior Coorientador: Gustavo Claro Monteiro 1. Química. 2. Síntese orgânica. 3. Moléculas Modelos. 4. Malária. 5. Malária Tratamento. I. Título.
-------	--

IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA

Este trabalho se pauta numa proposta alternativa de seleção de possíveis compostos com atividade farmacológica via análise *in silico*, simplificando o processo de proposta destes e permitindo um enfoque da síntese apenas daqueles dados como mais promissores, agilizando assim o processo de descoberta de novos possíveis antimaláricos, alinhado ao ODS (Objetivo de Desenvolvimento Sustentável) de número 3 conforme a OMS (Organização Mundial da Saúde).

POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH

The research herein is based on an alternative to select possible compounds with proposed pharmacological activity via *in silico* analysis, simplifying the proposal of new compounds and allowing a focus on synthesising only the most promising, thus speeding up the process of discovery for new possible antimalarials, in line with SDG (Sustainable Development Goal) number 3 according to the WHO (World Health Organization).

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Estudos computacionais e síntese de derivados ftalimídicos como potenciais inibidores do citocromo bc1, visando atividade antimalárica.

AUTOR: RODRIGO FERREIRA LUIZ

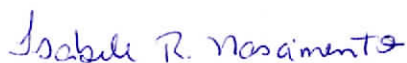
ORIENTADOR: NAILTON MONTEIRO DO NASCIMENTO JUNIOR

COORIENTADOR: GUSTAVO CLARO MONTEIRO

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Química, pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. NAILTON MONTEIRO DO NASCIMENTO JUNIOR (Participação Presencial)
Departamento de Bioquímica e Química Orgânica / Instituto de Química - UNESP - Araraquara



Prof.ª Dr.ª ISABELE RODRIGUES NASCIMENTO (Participação Presencial)
Departamento de Bioquímica e Química Orgânica / Instituto de Química - UNESP - Araraquara



Prof. Dr. CAUE BENITO SCARIM (Participação Presencial)
Departamento de Fármacos e Medicamentos / Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP - Araraquara

Araraquara, 30 de maio de 2025

DADOS CURRUCULARES

IDENTIFICAÇÃO

Nome: Rodrigo Ferreira Luiz

Nome em citações Bibliográficas: LUIZ, R. F.

ENDEREÇO PROFISSIONAL

Av. Prof. Francisco Degni, 55 - Jardim Quitandinha, Araraquara - SP, 14800-900

FORMAÇÃO ACADÊMICA/TITULAÇÃO

Bacharelado em Química – Instituto de Química – UNESP – ARARAQUARA

2018-2022

PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA

Demais produções técnicas: Artigo “The nicotine use disorder: available therapies, targets, drugs and structure-activity relationships involving bioactive compounds” – à publicar

Participação do evento “Congresso Sobre o Uso Terapêutico de Cannabis sativa L. "Prof. Dr. Elisaldo Luiz de Araújo Carlini"” realizado em 07/04 a 11/04/2025

Dedico esta dissertação aos meus pais, cujo apoio foi o que me permitiu concluir esse trabalho, às pessoas que não me deixaram desistir e me permitiram chegar até aqui e àqueles que essa pesquisa talvez possa ajudar no futuro.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer:

Ao Instituto de Química da UNESP, pela disponibilização da estrutura, equipamentos, e centrais analíticas vitais para a execução desse trabalho; às agências de fomento: CAPES (bolsa recebida ao longo do mestrado), FAPESP (2018/00187-7) e ao INCT – Inofar (Processo INCT/CNPq 402176/2024-3) pelo apoio financeiro, que permitiu o angario de recursos para a realização da pesquisa; novamente à CAPES pelo acesso ao portal de periódicos, permitindo o uso de outros trabalhos publicados como referências de pesquisa.

A mim mesmo, pela resiliência extrema que mantive ao longo do processo, principalmente na etapa final que foi tão tortuosa, mas mesmo assim não desisti da pesquisa, análise e escrita dos resultados que constam nesta dissertação, pois me mantive firme e crente em ver a conclusão desde trabalho.

Aos meus pais, Maria Cristina e Wilson Roberto, pelo apoio incondicional que me ofereceram durante todo o processo, em especial durante os momentos mais estressantes e sombrios, e ainda mais ao final do processo com tantas dificuldades de saúde.

Ao Departamento de Bioquímica e Química Orgânica, em especial à equipe do LaQMedSOMM, pelo apoio e opiniões oferecidas, pelas ideias de resolução de problemas e colaboração geral no processo de realização deste trabalho, e à antiga integrante da equipe, Bruna Lopes, em especial, pelas dicas que acabaram sendo essenciais nos toques finais.

Ao meu orientador, Prof. Nailton Monteiro do Nascimento Júnior, pelo acompanhamento no decorrer do processo de criação desta pesquisa, inclusive nas alterações sofridas pelo caminho, e no processo de discussão do trabalho, desde as reuniões aos momentos mais corriqueiros do dia a dia.

Ao meu co-orientador, Prof. Gustavo Claro Monteiro, pelas excelentes dicas no processo de síntese, mudanças em sistemas reacionais e tentativas de correção nos processos que fizemos no laboratório, além das opiniões quanto ao texto final de relatórios e a análise de resultados.

Aos técnicos responsáveis Uenifer e Rafael, que me salvaram nos momentos críticos da caracterização dos resultados desta pesquisa.

Ao Núcleo Alquimia, em especial à professora Daniela Alonso, por ser um grande apoio psicológico e pessoal em momentos difíceis e que me acompanhou desde o processo de graduação.

Agradeço em especial, Jaqueline e Vinícius, que nesse último ano morando juntos estivemos nós três contra muitos problemas, mas, mesmo assim, a decisão de morar junto de vocês foi uma das melhores que tomamos juntos.

Aos meus amigos, em especial Kaique Henrique, Heminy Okabe, Michel Tobias e Milena Ananias por todo o incentivo nos momentos de lazer, apesar de que no decorrer do mestrado foram ficando mais raros e espaçados.

Agradeço às minhas queridas gatas de estimação, Baunilha Tereza e Laranja Cristina, cujo prazer de cuidar e oferecer todo o afeto que elas tanto me pedem foi um dos maiores pontos de apoio que eu poderia ter em 2024

E finalmente, ao Guilherme, quem me acompanhou pelas piores crises de desespero, pelos momentos mais terríveis, e que me impediu de desistir do prosseguimento do mestrado mesmo quando tudo parecia perdido.

RESUMO

A malária segue sendo uma doença de alto risco, mesmo que não seja mais considerada uma doença negligenciada, visto que seus tratamentos apresentam uma presente tendência de estagnação, conforme as métricas da OMS (Organização Mundial da Saúde). Neste trabalho de pesquisa é feita a descrição da aplicação de uma metodologia computacional de seleção de derivados de ftalimidas, por aplicação de modelagem molecular e docagem de 50 destes derivados na molécula alvo, o complexo do citocromo bc1, em um sítio ativo anteriormente selecionado, em que atua a estiguiamatelina A, causando a inibição do complexo. Esse estudo foi realizado visando validar a metodologia computacional como forma de seleção de possíveis compostos relevantes para estudos farmacológicos em alternativa à seleção manual de derivados, dessa forma foi realizada apenas a síntese dos compostos ditos como de maior atividade, prevista segundo o método de cálculo semiempírico PM7, que usa como base o formalismo Hartree–Fock e aproximações para alguns parâmetros. Feita a seleção dos 8 derivados com maior atividade, a síntese dos compostos foi realizada e descrita, com destaque para os desafios encontrados no processo, e possíveis alternativas aplicadas e propostas para estes desafios, sendo então 3 de 8 compostos selecionados sintetizados conforme o proposto, e sua identificação preliminar foi feita por meio de espectroscopia no infravermelho e RMN (Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear). Também é aferida a eficácia relativa da síntese e das metodologias de purificação aplicadas por meio de testes de pontos de fusão dos produtos obtidos, cuja faixa de fusão, em todos os casos, foi menor que o intervalo de 1 °C, demonstrando pureza dos compostos sintetizados. Mais testes identificativos, como espectrometria de massas, ainda precisam ser realizados para garantir o êxito do processo sintético, além de testes farmacológicos *in vitro* para aferir a eficácia apontada pela metodologia computacional, contudo, o objetivo de se demonstrar a maior agilidade do processo em comparação ao método manual foi atingido, e um processo tentativo de síntese foi proposto com êxito.

Palavras-chave: malária; síntese; computacional.

ABSTRACT

Malaria remains a high-risk disease, even though it is no longer considered a neglected disease, as its treatments are currently trending toward stagnation, according to WHO (World Health Organization) metrics. This research describes the application of a computational methodology for selecting phthalimide derivatives, using molecular modeling and docking 50 of these derivatives onto the target molecule, the cytochrome bc1 complex, at a previously selected active site from which stiguimatelin A acts, causing inhibition of the complex. This study is aimed at the validation of the computational methodology as a means of selecting potential relevant compounds for pharmacological studies, as an alternative to manual compound selection. Therefore, only the compounds deemed to have the highest activity were synthesized, as predicted by the PM7 semiempirical calculation method, which uses the Hartree–Fock formalism and approximations for relevant parameters. Once the eight derivatives with the highest activity were selected, the compounds were synthesized and described, highlighting the challenges encountered during the process and potential alternatives applied and proposed to address these challenges. Three of the eight selected compounds were synthesized as proposed, and their preliminary identification was performed using infrared spectroscopy and NMR (Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy). The relative effectiveness of the synthesis and purification methodologies was also assessed by testing the melting points of the obtained products. The melting range, in all cases, was below 1 °C, demonstrating the purity of the synthesized compounds. Further identification tests, such as mass spectrometry, still need to be performed to ensure the success of the synthetic process, in addition to *in vitro* pharmacological tests to assess the effectiveness indicated by the computational methodology. However, the main objective, to demonstrate the greater agility of the process compared to the manual selection method was successfully achieved and a tentative synthesis was successfully proposed.

Keywords: malaria; synthesis; computational.

Índice de figuras

Figura 1: Esquema simplificando do ciclo de transmissão da malária. O ciclo completo é dividido em A, B e C para facilitar a discussão; A se refere ao ciclo exo-eritrocítico, no corpo humano (especificamente no fígado); B se refere ao ciclo eritrocítico, no sangue (especificamente nos eritrócitos); e C se referindo ao ciclo esporogônico, no mosquito. Figura de autoria própria.....	16
Figura 2: Estrutura das substâncias quinina e artemisinina.....	17
Figura 3: Estrutura das substâncias atovaquona e proguanil.....	18
Figura 4: Esquema da transferência de elétrons e prótons do ciclo Q do citocromo bc1, com destaque para os ciclos Qo e Qi, em vermelho e azul respectivamente, que são sítios chave de reação onde pode ocorrer a inibição do seu funcionamento. Figura de autoria própria.....	20
Figura 5: Esquema de estrutura das 48 moléculas propostas. Autoria própria.....	24
Figura 6: Gráfico de Ramachandran, retratando o posicionamento dos aminoácidos da estrutura segundo os valores de ψ e ϕ	25
Figura 7: Melhores ligantes, segundo análise dos complexos exportados; nota-se a ausência do grupo Et como substituinte na amina da ftalimida dentre os selecionados como de melhor pontuação.....	27
Figura 8: Interação das moléculas propostas com o sítio selecionado; a diferença das cores indica a diferença de interação; as 3 substâncias dispostas são as 3 que foram sintetizadas; L.H. não clássica se refere à interações do tipo Ligação de Hidrogênio não clássicas (interação de H que não com F, O ou N).....	28
Figura 9: Esquema da metodologia de síntese proposta para as substâncias selecionadas; DCE – 1,2-dicloroetano.....	29
Figura 10: Estruturas de ressonância da 4-aminopiridina, com destaque para o desenvolvimento de cargas nos átomos de N do composto, que alteram a distribuição eletrônica do sistema quando comparado as formas 2 e 3 da molécula, fazendo com que o ataque da 4-aminopiridina seja prejudicado quando comparado com as demais.....	29
Figura 11: Espectro de Infravermelho do produto 1.....	33
Figura 12: Espectro de Infravermelho do produto 2.....	34
Figura 13: Espectro de Infravermelho referente ao produto 4.....	35
Figura 14: Espectro de RMN de ^1H do produto 2, com imagem da molécula com seus átomos enumerados, para indicação dos sinais no espectro.....	36
Figura 15: Espectro de RMN de ^{13}C do produto 2; a numeração indicada na molécula na figura 9 ainda será usada para atribuir os carbonos aos sinais.....	37

Figura 16: Espectro de Infravermelho referente ao intermediário 1 da primeira etapa da síntese proposta para o composto 1.....	43
Figura 17: Espectro de Infravermelho referente ao intermediário 2, da segunda etapa da síntese proposta para o composto 1.....	45
Figura 18: Espectro de Infravermelho do produto final 1.....	47
Figura 19: Espectro de Infravermelho referente ao intermediário da etapa 1 da síntese proposta para os compostos 2 e 3.....	49
Figura 20: Espectro de Infravermelho referente ao produto final 2.....	51
Figura 21: Espectro de Infravermelho referente ao intermediário da etapa 1 da síntese proposta para o composto 4.....	53
Figura 22: Espectro de Infravermelho referente ao produto final 4.....	55
Figura 23: Espectro de Infravermelho referente ao intermediário 1 referente à primeira etapa da síntese proposta para os compostos 6 e 7.....	57
Figura 24: Espectro de Infravermelho referente ao intermediário 1, da primeira etapa da síntese proposta, para o composto 8.....	59
Figura 25: Espectro de Infravermelho referente ao intermediário 2, da segunda etapa da síntese proposta para o composto 8.....	61
Figura 26: ligante 1-CF ₃ -meta, na sua melhor pose de interação;.....	63
Figura 27: ligante 2A-CF ₃ -meta, na sua melhor pose de interação.....	64
Figura 28: ligante 2B-CF ₃ -meta, na sua melhor pose de interação.....	65
Figura 29: ligante 3-CF ₃ -meta, na sua melhor pose de interação.....	66
Figura 30: ligante 4-CF ₃ -meta, na sua melhor pose de interação.....	67
Figura 31: ligante 1-CF ₃ -orto, na sua melhor pose de interação.....	68
Figura 32: ligante 2-CF ₃ -orto, na sua melhor pose de interação.....	69
Figura 33: ligante 3-CF ₃ -orto, na sua melhor pose de interação.....	70
Figura 34: ligante 4-CF ₃ -orto, na sua melhor pose de interação.....	71
Figura 35: ligante 1-CF ₃ -para, na sua melhor pose de interação.....	72
Figura 36: ligante 2A-CF ₃ -para, na sua melhor pose de interação.....	73
Figura 37: ligante 2B-CF ₃ -para, na sua melhor pose de interação.....	74
Figura 38: ligante 3-CF ₃ -para, na sua melhor pose de interação.....	75

Figura 39: ligante 4-CF ₃ -para, na sua melhor pose de interação.....	76
Figura 40: ligante 1-N-meta, na sua melhor pose de interação.....	77
Figura 41: ligante 2-N-meta, na sua melhor pose de interação.....	78
Figura 42: ligante 3-N-meta, na sua melhor pose de interação.....	79
Figura 43: ligante 4-N-meta, na sua melhor pose de interação.....	80
Figura 44: ligante 1-N-orto, na sua melhor pose de interação.....	81
Figura 45: ligante 2-N-orto, na sua melhor pose de interação.....	82
Figura 46: ligante 3-N-orto, na sua melhor pose de interação.....	83
Figura 47: ligante 4-N-orto, na sua melhor pose de interação.....	84
Figura 48: ligante 1-N-para, na sua melhor pose de interação.....	85
Figura 49: ligante 2-N-para, na sua melhor pose de interação.....	86
Figura 50: ligante 3-N-para, na sua melhor pose de interação.....	87
Figura 51: ligante 4-N-para, na sua melhor pose de interação.....	88
Figura 52: ligante 1-NO ₂ -meta, na sua melhor pose de interação.....	89
Figura 53: ligante 2-NO ₂ -meta, na sua melhor pose de interação.....	90
Figura 54: ligante 3-NO ₂ -meta, na sua melhor pose de interação.....	91
Figura 55: ligante 4-NO ₂ -meta, na sua melhor pose de interação.....	92
Figura 56: ligante 1-NO ₂ -orto, na sua melhor pose de interação.....	93
Figura 57: ligante 2-NO ₂ -orto, na sua melhor pose de interação.....	94
Figura 58: ligante 3-NO ₂ -orto, na sua melhor pose de interação.....	95
Figura 59: ligante 4-NO ₂ -orto, na sua melhor pose de interação.....	96
Figura 60: ligante 1-NO ₂ -para, na sua melhor pose de interação.....	97
Figura 61: ligante 2-NO ₂ -para, na sua melhor pose de interação.....	98
Figura 62: ligante 3A-NO ₂ -para, na sua melhor pose de interação.....	99
Figura 63: ligante 3B-NO ₂ -para, na sua melhor pose de interação.....	100
Figura 64: ligante 4-NO ₂ -para, na sua melhor pose de interação.....	101
Figura 65: ligante 1-OMe-meta, na sua melhor pose de interação.....	102

Figura 66: ligante 2-OMe-meta, na sua melhor pose de interação.....	103
Figura 67: ligante 3-OMe-meta, na sua melhor pose de interação.....	104
Figura 68: ligante 4-OMe-meta, na sua melhor pose de interação.....	105
Figura 69: ligante 1-OMe-orto, na sua melhor pose de interação.....	106
Figura 70: ligante 2-OMe-orto, na sua melhor pose de interação.....	107
Figura 71: ligante 3-OMe-orto, na sua melhor pose de interação.....	108
Figura 72: ligante 4-OMe-orto, na sua melhor pose de interação.....	109
Figura 73: ligante 1-OMe-para, na sua melhor pose de interação.....	110
Figura 74: ligante 2-OMe-para, na sua melhor pose de interação.....	111
Figura 75: ligante 3-OMe-para, na sua melhor pose de interação.....	112
Figura 76: ligante 4-OMe-para, na sua melhor pose de interação.....	113
Figura 77: espectro de ^1H para a substância 3Npyr4NO ₂	2
Figura 78: destaque do espectro de ^1H para a substância 3Npyr4NO ₂	3
Figura 79: espectro de ^{13}C para a substância 3Npyr4NO ₂	4
Figura 80: destaque do espectro de ^{13}C para a substância 3Npyr4NO ₂	5
Figura 81: espectro de ^1H para a substância 3Npyr4NH ₂	6
Figura 82: destaque do espectro de ^1H para a substância 3Npyr4NH ₂	7
Figura 83: espectro de ^{13}C para a substância 3Npyr4NH ₂	8
Figura 84: destaque do espectro de ^{13}C para a substância 3Npyr4NH ₂	9
Figura 85: espectro de ^1H para a substância 2Npyr4NO ₂	10
Figura 86: destaque do espectro de ^1H para a substância 2Npyr4NO ₂	11
Figura 87: espectro de ^{13}C para a substância 2Npyr4NO ₂	12
Figura 88: destaque do espectro de ^{13}C para a substância 2Npyr4NO ₂	13
Figura 89: espectro de ^1H para a substância 3CF ₃ 4NO ₂	14
Figura 90: destaque do espectro de ^1H para a substância 3CF ₃ 4NO ₂	15
Figura 91: espectro de ^{13}C para a substância 3CF ₃ 4NO ₂	17
Figura 92: destaque do espectro de ^{13}C para a substância 3CF ₃ 4NO ₂	18

Figura 93: segundo destaque do espectro de ^{13}C para a substância $3\text{CF}_34\text{NO}_2$	19
Figura 94: espectro de ^1H para a substância $3\text{CF}_34\text{NH}_2$	21
Figura 95: destaque do espectro de ^1H para a substância $3\text{CF}_34\text{NH}_2$	22
Figura 96: espectro de ^{13}C para a substância $3\text{CF}_34\text{NH}_2$	24
Figura 97: destaque do espectro de ^{13}C para a substância $3\text{CF}_34\text{NH}_2$	25

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Interações dos 8 ligantes mais bem pontuados com os aminoácidos relevantes do sítio selecionado para a macromolécula.....	26
Tabela 2: cont. tabela 1; interações dos 8 ligantes mais bem pontuados com os aminoácidos relevantes do sítio selecionado para a macromolécula.....	26
Tabela 3: Disposição de cores e legenda do tipo de interação referente para cruzamento com as tabelas 1 e 2.....	26
Tabela 4: Relação dos pontos de fusão (faixas de fusão) dos compostos sintetizados.....	32
Tabela 5: Relação dos valores de R _f observado em CCD (Cromatografia em Camada Delgada) (AcOEt/Hex 50/50 – Acetato de Etila/Hexano 50/50)	32

Sumário

INTRODUÇÃO.....	15
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	24
METODOLOGIA DE ANÁLISE COMPUTACIONAL.....	24
PROTOCOLO DE SÍNTESE.....	29
MATERIAIS E MÉTODOS DE SÍNTESE.....	30
CARACTERIZAÇÃO E PURIFICAÇÃO.....	32
CONCLUSÃO.....	38
REFERÊNCIAS.....	39
APÊNDICE A – RELAÇÃO DE ESPECTROS DE INFRAVERMELHO.....	43
APÊNDICE B – RELAÇÃO DE INTERAÇÕES DOS COMPLEXOS SUBSTÂNCIA-MACROMOLÉCULA.....	63
APÊNDICE C – TABELA DE INTERAÇÕES COMPLETA.....	1
APÊNDICE D – RELAÇÃO DE ESPECTROS DE RMN (^1H E ^{13}C).....	1

INTRODUÇÃO

A malária, também conhecida popularmente como maleita ou ainda febre terçã, é uma doença causada por parasitas protozoários do gênero *Plasmodium*, sendo transmitida para os humanos por picadas do mosquito vetor, as fêmeas infectadas de espécies de mosquito do gênero *Anopheles* (mosquito-prego), não sendo então uma doença contagiosa de transmissão direta de um indivíduo infectado para um indivíduo saudável. A doença apresenta riscos para a saúde caso não seja tratada em período oportuno e de forma adequada, principalmente para crianças e pessoas idosas ou que já sofreram de outras infecções anteriores de malária. (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2022;[s.d.])

Segundo a OMS, a malária não tem mais o posto de doença negligenciada, devido a avanços de novas opções de tratamento e de controle na infecção por *P. falciparum* principalmente no continente Africano, a saber, os métodos de terapia combinada de artemisinina/artesunato e derivados de cloroquina/mefloquina. Atualmente, os problemas enfrentados no combate a doença são na frente de desenvolvimento de resistência aos métodos atuais de tratamento, principalmente por conta de formas incorretas de uso das metodologias por parte da população geral, que ocorre principalmente devido aos efeitos adversos da maior parte das substâncias usadas para o tratamento da malária, dentre os quais vários efeitos ditos como desconfortáveis para o público geral (a saber: náusea, episódios de dores no estômago ou no corpo, tonturas, vômito). (WHO, 2024a; WHO, 2024b)

Apesar deste avanço observado nos tratamentos, metade da população global ainda corre risco de exposição à malária e ainda existem áreas endêmicas da doença onde o acesso ao tratamento é prejudicado, principalmente para populações mais pobres e com pouco ou nenhum acesso fácil ao atendimento a saúde. Na atualidade, o continente com a maior parte dos casos da doença é a África, especialmente na região Subsaariana, por conta da endemia do *Plasmodium falciparum* nesta região, que contabiliza cerca de 94% dos casos e 95% das mortes causadas pela malária. Mais alarmante é o dado acerca da porcentagem de crianças infectadas, que são uma população sensível e de risco para a doença, e nessa mesma região 76% das mortes são de crianças de até 5 anos de idade segundo dados da OMS. Projeções e métricas atualizadas para o combate da malária dentro da janela estipulada de 2024 a 2030 é detalhada pela OMS no documento intitulado “Global Malaria Programme operational strategy”. (WHO, 2024a)

Já no ponto de vista do Brasil, o Ministério da Saúde apresenta uma série de recomendações e programas de prevenção, combate e profilaxia da malária nas regiões de maior incidência no país, especialmente na região mais afetada (porção amazônica da Região Norte), mas também nas regiões de grande risco de transmissão. (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2022; [s.d.])

Como já elucidado acima, a malária é causada por protozoários do gênero *Plasmodium*, de forma mais específica, por cinco espécies conhecidas que causaram casos documentados de malária no ser humano, a saber: *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale* e *P. knowlesi*, sendo as quatro primeiras específicas para infecção em humanos e a última, *P. knowlesi* conhecida por infecções em símios do gênero *Macaca*, causando a malária zoonótica de forma generalizada na região do Sudeste Asiático. (ALGHAMDI, 2024; ANWAR, 2024)

Das espécies causadoras da malária em humanos, a espécie causadora da forma mais grave da malária é o *P. falciparum*, que é também a espécie mais prevalente em número de casos, correspondendo a 98 a 99% dos casos da região Subsaariana, e a espécie causadora da forma com maior risco de reincidência da doença é a espécie *P. vivax*, que é muito prevalente na região continental da América do Sul e na região do Sudeste da Ásia. (ALGHAMDI, 2024)

Os protozoários causadores da malária são agentes etiológicos que têm um ciclo de vida complexo, que será detalhado na **Figura 1** a seguir:

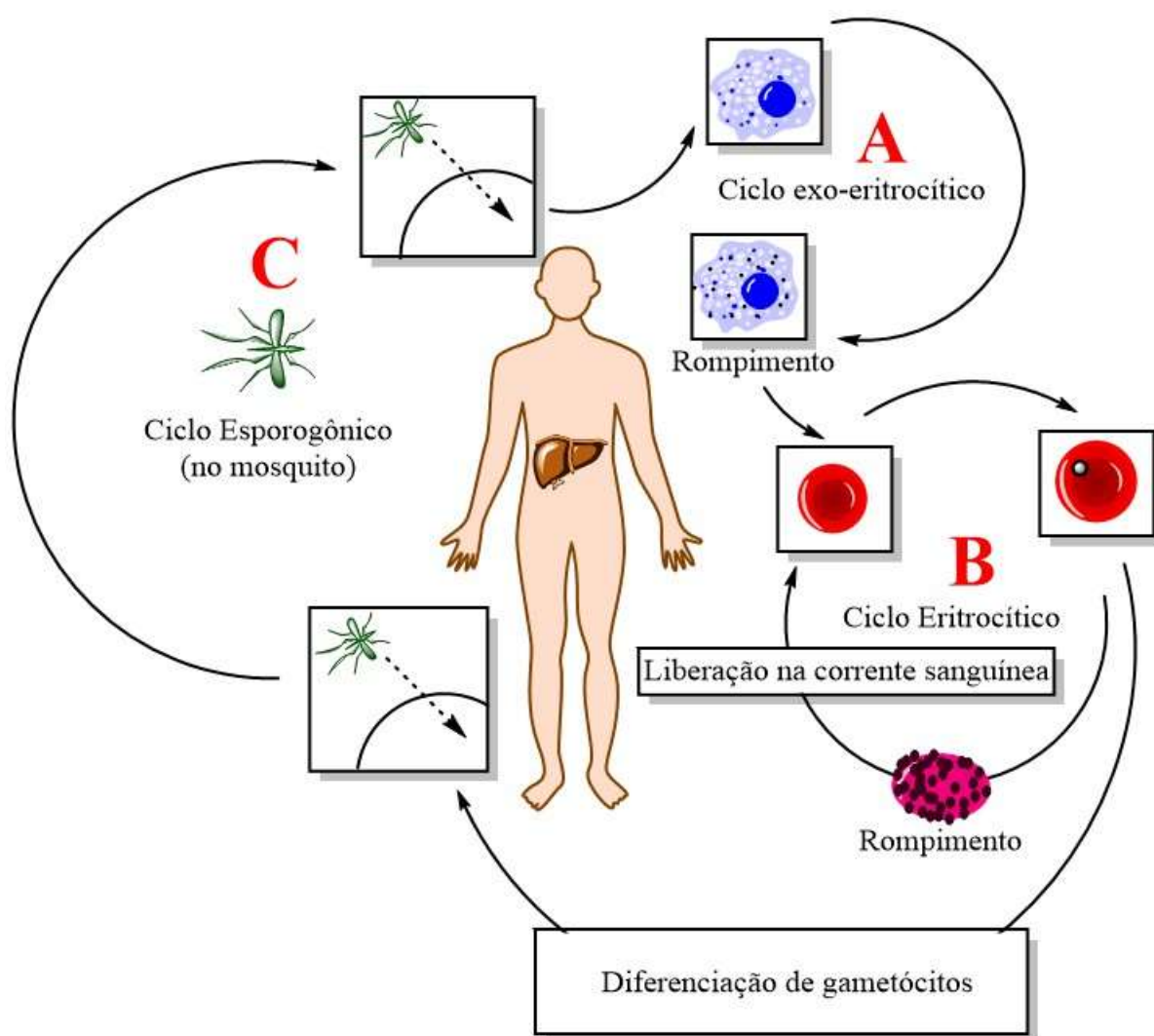


Figura 1: Esquema simplificando do ciclo de transmissão da malária. O ciclo completo é dividido em A, B e C para facilitar a discussão; A se refere ao ciclo exo-eritrocítico, no corpo humano (especificamente no fígado); B se refere ao ciclo eritrocítico, no sangue (especificamente nos eritrócitos); e C se referindo ao ciclo esporogônico, no mosquito. Figura de autoria própria.

O ciclo se inicia com a picada do mosquito infectado, o organismo vetor, que contém os parasitas na sua saliva, na forma de esporozoítos, se iniciando o ciclo exo-eritrocítico como demonstrado em A na **Figura 1**. A picada do mosquito injeta os esporozoítos na corrente sanguínea do hospedeiro humano. Na corrente sanguínea, o parasita circula até se estabelecer nas células hepáticas, onde ocorre a replicação celular dentro das células infectadas de forma assexuada, formando o esquizonte, até o rompimento das células. Nesta etapa, o *P. vivax* pode gerar células diferenciadas contaminadas latentes, os hipnozoítos, que são as responsáveis pelo alto risco e prevalência de reincidência de malária nos casos de infecção por essa espécie. (HALDAR, 2007; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2022)

Na sequência, os esquizontes circulam no sangue após o rompimento das células hepáticas, entrando agora no ciclo eritrocítico demonstrado em B na **Figura 1**, onde ocorre a infecção dos eritrócitos (glóbulos vermelhos) em ciclos de infecção repetidos, por conta de reprodução dos protozoários dentro das células até o seu rompimento, sendo esta a etapa causadora da maior parte dos sintomas mais desconfortáveis para o hospedeiro: a sequência de febres, ânsia e náusea, fadiga muscular, anemia, irregularidade do metabolismo cardíaco. (MOTTA et al., 2023)

A maior parte dos esporozoítos liberados volta a infectar glóbulos vermelhos, seguindo o ciclo supracitado, mas uma pequena parte se diferencia sexualmente, formando os gametócitos, que serão então transmitidas para o mosquito vetor numa próxima picada, entrando agora no ciclo esporogônico, demonstrado em C na **Figura 1**, em que os gametócitos se desenvolvem em macro e microgametócitos (forma feminina e masculina, respectivamente), havendo então a fecundação e formação da ooteca, que se desenvolve e forma o oocisto maduro, que se rompe e libera os esporozoítos nas glândulas salivares do mosquito, fazendo com que o vetor possa prosseguir no processo de infecção e transmissão, reiniciando o ciclo. (KAMIYA et al., 2022; SMITH; VEGA-RODRÍGUEZ; JACOBS-LORENA, 2014)

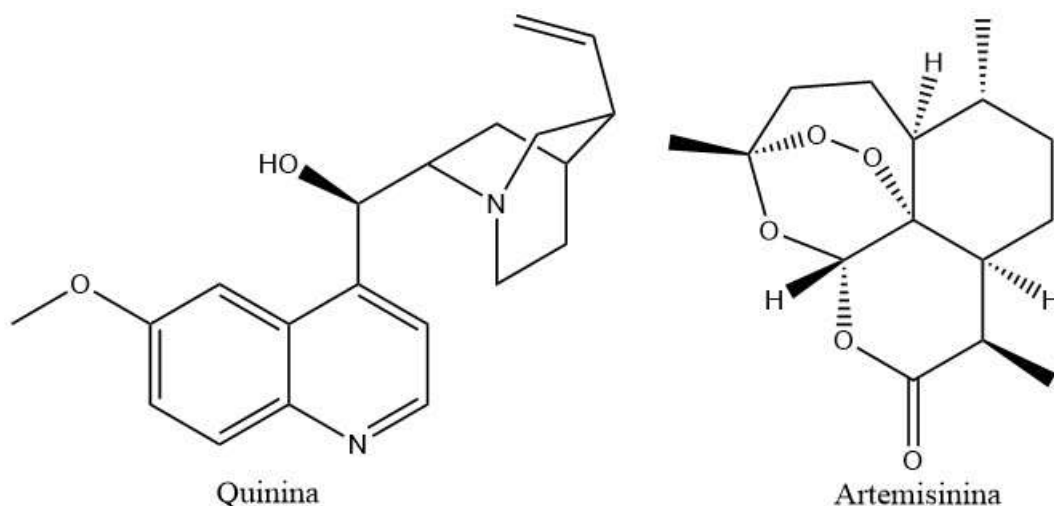


Figura 2: Estrutura das substâncias quinina e artemisinina.

Dada a complexidade do ciclo de vida do parasita, os medicamentos podem atuar em diferentes áreas do ciclo e com mecanismos de ação muito distintos e algumas vezes na forma de tratamentos combinados, e sendo possível a sua aplicação, aliada de metodologias de profilaxia e prevenção no combate da doença. A maior parte dos tratamentos em uso aplica como princípio ativo moléculas de estrutura derivada da quinina (**Figura 2**), uma molécula com efeito farmacológico já conhecido para a malária, que é um alcaloide com propriedades antitérmicas, antimaláricas e analgésicas. É uma substância que inicialmente era extraída da casca de uma planta sul-americana conhecida como Quina ou Chinchona, sendo conhecida desde meados do século XIX. Atualmente é extraída de espécies do mesmo gênero da planta inicialmente descoberta por metodologias de extração por solventes combinados. (ALGHAMDI, 2024; ANWAR, 2024; ACHAN et al., 2011; OLIVEIRA; SZCZERBOWSKI, 2009)

Para além dos derivados da quinina, há derivados também da artemisinina (**Figura 2**), um composto também derivado de uma espécie de planta, *Artemisia annua*, cuja estrutura contém um endoperóxido que é essencial para ativação do efeito farmacológico da molécula,

que ainda não foi elucidado, sendo seus derivados comumente utilizados em terapias combinadas, principalmente para combate de malária não complicada causada por *P. falciparum*, já que o tratamento combinado atua em mais de uma frente contra o parasita. (MAIGA et al., 2021)

Outras formas de tratamento atuam por meio da inibição do ciclo respiratório do parasita, em tratamentos aprovados para esse alvo temos o combinado de atovaquona e proguanil (**Figura 3**), que são aplicados para tratamento da malária causada por *P. falciparum*; os problemas de resistência são causados por mutações genéticas que alteram a estrutura dos aminoácidos na região do sítio ativo, sendo que as mais documentadas observam alterações dos aminoácidos chave onde a atovaquona se liga no sítio ativo do complexo do citocromo bc1. (FISHER et al., 2012; WICHT; MOK; FIDOCK, 2020)

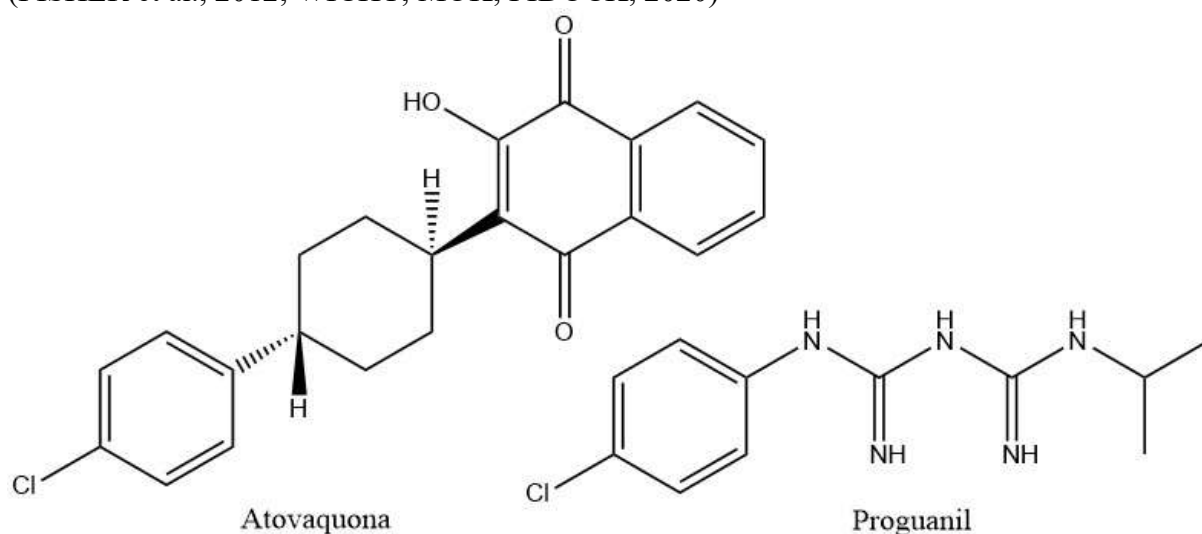


Figura 3: Estrutura das substâncias atovaquona e proguanil.

Atualmente, muitas cepas do protozoário, principalmente das espécies *P. vivax* e *P. falciparum*, contam com estudos sobre alta incidência de resistência a tratamentos da doença com um único composto, sendo muitas vezes preciso o uso de tratamentos combinados e múltiplos métodos de ação para haver eficácia de eliminação do parasita. Mesmo assim, estudos recentes mostram que já há registros de alguma resistência a estas terapias combinadas, principalmente pelo *P. falciparum*. Já em casos de estudos específicos, no caso de *P. falciparum* resistente a múltiplos derivados de cloroquina, os resultados mostram que essa resistência se desenvolve em decorrência de modificações de membrana no vacúolo digestivo do parasita, uma organela responsável pela digestão e processos metabólicos naturais do protozoário, com essas alterações impedindo que os compostos da família da cloroquina e seus derivados se liguem aos resíduos de grupos heme que se formam pós digestão dos eritrócitos pelo parasita. (FISHER et al., 2012; WICHT; MOK; FIDOCK, 2020; BALIKAGALA et al., 2021)

Os maiores efeitos de resistência decorrem então de uma combinação de fatores, uma vez que os danos causados pela falta de acesso e a falta da busca por tratamentos, ao mesmo tempo em que a aplicação correta destes tratamentos pelo hospedeiro humano afetado não é seguida de acordo com a posologia, justamente pelo grande número de efeitos colaterais e sintomas adversos destas substâncias usadas para combate e tratamento da malária. Além disso, ainda ocorrem os problemas de falta de verba em certas localidades, ou ainda falta de informação para

as populações afetadas, o que dificulta ainda mais comunicação da disponibilidade e eficácia dos tratamentos disponíveis. (PLOWE, 2022; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2022)

Outras metodologias de combate à doença envolvem um grande foco na profilaxia, voltada à prevenção das infecções e contaminações além das áreas endêmicas, com tratamentos focados em: eliminação dos organismos vetores, por uso de armadilhas para remoção de mosquitos infectados, e a eliminação dos protozoários antes do estabelecimento da infecção de forma generalizada para as pessoas que viajam para áreas endêmicas. (WHO, 2024a; WHO, 2024b, MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2022)

Metodologias que buscam mitigar os efeitos da resistência procuram em sua maioria aumentar o número de tratamentos disponíveis com mecanismos de ação farmacológico diferentes, e também promover mudanças de formas de aplicações destes métodos, ou ainda a melhora da aplicação das terapias combinadas, aliando o uso destas combinações em diferentes fases de infecções da doença para facilitar o seu combate e principalmente na comunicação com as pessoas afetadas. (MCGUINNESS et al., 2024)

A busca por uma forma de prevenção eficaz para a malária que não dependa de aplicações de medicamentos ocorre desde a década de 60, com foco na pesquisa e descoberta de uma vacina eficaz para o parasita da malária, por meio de ação focada no ciclo pré-eritrocítico, ou seja, na fase hepática da doença, impedindo que o parasita cause os sintomas e se espalhe. As vacinas aprovadas, RTS,S/AS01 (RTS,S) e R21/Matrix-M, as primeiras vacinas para um parasita humano, já são uma realidade, sendo que as primeiras aplicações fora de ambientes de testagem ocorreram no ano de 2024 na região subsaariana do continente africano, e sua aplicação gerou uma redução de casos de malária não-complicada em 40%, de malária severa em 30% e 13% de redução da mortalidade no geral. (CDC, 2024b; DUFFY et al., 2024; DRAPER et al., 2018)

Considerando essas dificuldades, há ainda novas propostas para desenvolvimento de metodologias de tratamento que usem novos mecanismos para o combate a doença, com enfoque naqueles para os quais há poucas alternativas de compostos com um mesmo método de ação ou com um mesmo sítio ativo (UMUMARARUNGU et al., 2023). No caso deste trabalho, o mecanismo de interesse é o ciclo respiratório do parasita, especificamente a interrupção do funcionamento do complexo do citocromo bc1 como já citado, uma vez que este complexo já é um alvo de atuação conhecido para outros organismos e para o protozoário causador da malária.

Na **Figura 4** a seguir, o mecanismo de funcionamento do complexo III da cadeia respiratória, o complexo supracitado, é detalhado, com destaque para as duas áreas reacionais relevantes dentro do complexo do citocromo BC1, os sítios Q_o/Q_i , além de ênfase no fluxo de elétrons e de prótons na cadeia respiratória. Estas áreas são os sítos de reação de interesse no complexo, e, portanto, mudanças em seus sistemas reacionais geram a inibição do funcionamento normal da macromolécula.

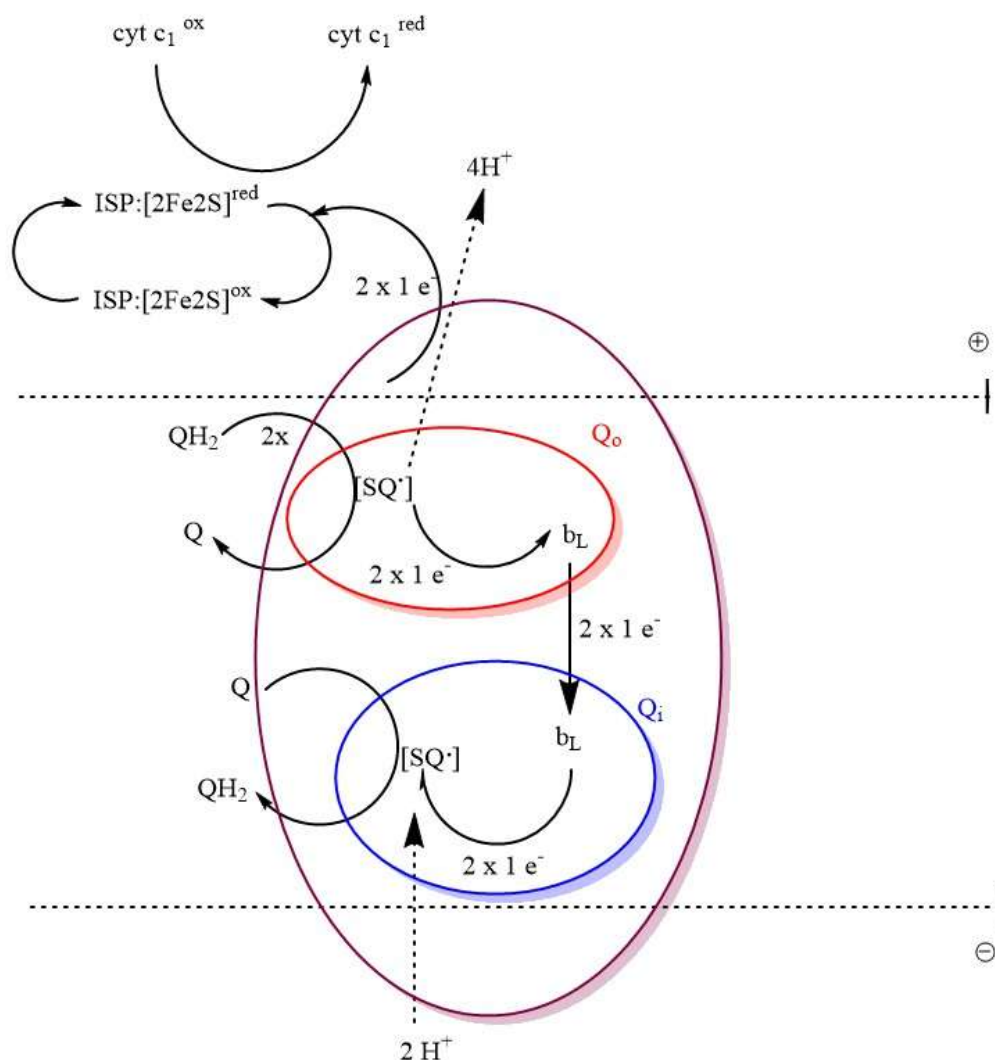


Figura 4: Esquema da transferência de elétrons e prótons do ciclo Q do citocromo bc1, com destaque para os ciclos Q_o e Q_i, em vermelho e azul respectivamente, que são sítios chave de reação onde pode ocorrer a inibição do seu funcionamento. Figura de autoria própria.

Para análise dos sítios relevantes, técnicas de análise do complexo ligante-macromolécula para ambos os sítios são de extrema relevância, sendo o ligante nesse caso o ubiquinol para o sítio Q_o e a ubiquinona para o sítio Q_i. Para o primeiro caso, no sítio Q_o (destacado na **Figura 4** em vermelho) não há modelos de co-cristalização com definição adequada para estudos do substrato interagindo com o sítio, mas existem muitos outros estudos para inibidores docados na região, enquanto para o segundo caso, no sítio Q_i (destacado na **Figura 4** em azul) existem dados do substrato docado e de inibidores do sítio. (JACOBSEN; HUSEN; SOLOV'YOV, 2021)

A relevância de se haverem dois sítios onde podem haver interações com moléculas de interesse se faz importante por conta da maior diferença entre eles, que é a presença da proteína ISP (iron-sulphur protein) no sítio Q_o (na Figura 4 descrita como ISP:[2Fe2S]). Dessa forma, o sítio Q_o interage com o citocromo c, por meio da interação com o complexo 2Fe2S no transporte de elétrons, sendo esse processo o alvo da grande maioria dos inibidores deste sítio, com a identificação da H181 (Histidina 181 – nomenclatura referente a estrutura cristalográfica de *Saccharomyces cerevisiae*) do citocromo C interagindo por meio de uma ligação de H com os inibidores, tornando a interação do complexo da proteína ISP e citocromo B mais rígido, e assim

bloqueando a reação. Também é relevante nesse caso a interação dos inibidores com o E272 (Glutamato 272 – nomenclatura referente a estrutura cristalográfica de *Saccharomyces cerevisiae*) mais no interior da cavidade do sítio ativo, proximal ao grupo heme bL (como descrito na **Figura 4** como caminho para a transferência de elétrons), em que essa interação gera uma mudança estrutural do sítio ativo por um afastamento da cadeia contendo o resíduo em questão do grupo heme. No caso do sítio Q_i, não há a proximidade da ISP (iron-sulphur protein), e assim, o tipo de interação dos inibidores é diferente, gerando uma alteração na conformidade do sítio ativo, por interação com H202 e S206 (Histidina 202 e Serina 206 – notação de *S. cerevisiae*), que faz com que o processo normal de reação do substrato no sítio não ocorra, gerando acúmulo de elétrons da parte anterior da cadeia reacional e provocando produção de superóxidos e espécies reativas de oxigênio (ERO), que aumenta o estresse oxidativo e causam o colapso da cadeia de reação. (JACOBSEN; HUSEN; SOLOV'YOV, 2021)

Existem ainda alguns compostos que atuam inibindo ambos os sítios mencionados, como alguns antifúngicos (ametotradin, ascochlorin) e antimaláricos (endochin ELQ-400) conhecidos, cuja importância é fundamental justamente porque mutações no citocromo que causem resistência a esses compostos são extremamente prejudiciais ao organismo que as sofrer, por se tratar de uma parte fundamental da cadeia respiratória, sendo mais danosas que benéficas. (MCCONNELL et al., 2018; FISHER et al., 2012)

O complexo bc₁ é um alvo já conhecido para fármacos e fungicidas na lavoura atualmente em uso, principalmente aqueles usados para eliminar fungos que agem em plantas de uso alimentar, como trigo e soja, sendo a maior parte dos fungicidas em uso derivados sintéticos da família de compostos das estrobilurinas, que agem pela inibição do sítio Q_o do complexo. Essa família de moléculas é produzida em fungos da espécie *Strobilurus tenacellus* e são usadas pelo fungo em questão para evitar competição de outras espécies por alimento, sendo então moléculas de efeito fungicida que podem ser extraídas e modificadas para uso na lavoura. (YOUNG; MEUNIER, 2022)

Em algumas espécies de fungos já há documentação de resistência a estes compostos, principalmente por modificações na G147A (Glicina 147 da cadeia representativa A), sendo que nas espécies onde essa modificação ocorre, surge uma alanina no lugar da glicina em questão, reduzindo a afinidade do inibidor com o sítio, mas gerando pouca ou nenhuma alteração da interação sítio-ubiquinol. Em outras espécies, a estrutura do gene codificador do citocromo B não permite que ocorra essa mesma alteração, causando problemas na produção do citocromo em questão, então não se observa esse mesmo tipo de resistência, sendo o seu desenvolvimento é detrimental para o fungo. Apesar disso, essa mutação em especial é a mais presente nas espécies de fungos com resistência a família das estrobilurinas e seus derivados. (DE OLIVEIRA, 2022; FENG et al., 2020; BARTLETT et al., 2002)

Para os inibidores que atuam no sítio Q_i, há apenas 3 aprovados para uso, a saber nominalmente: amisulbrom, ciazofamida e ametotradina; sendo que pesquisas recentes revelam uma possibilidade de desenvolvimento de mais possíveis fungicidas com esse sítio ativo em mente, considerando a resistência documentada. (YOUNG; MEUNIER, 2022)

Ainda existem mecanismos alternativos de desenvolvimento de resistência, para além de modificações na estrutura do citocromo por meio de modificações genéticas, que, embora mais raros, ocorrem por meio de alterações no mecanismo de respiração celular em si, por caminhos oxidativos alternativos por via da enzima oxidase alternativa (AOX). Nesses casos, ocorre uma bifurcação no processo respiratório, de modo que mesmo com o complexo do citocromo bc₁ inibido (o complexo III), a atuação da cadeia segue após o complexo II pela via da AOX, que atua como quinol-oxidase sem dependência do fluxo de prótons, agora reduzido pela inibição

descrita. A oxidase alternativa está presente em espécies de fungos, plantas e protistas (sendo que está ausente das espécies *Plasmodium sp.*, as causadoras da malária). Esse processo alternativo é menos eficiente que a cadeia respiratória normal, gerando uma redução metabólica nas espécies que criem resistência apenas por esse método, já que ocorre redução da produção de ATP. Além disso, por conta do mecanismo da oxidase alternativa ser importante nas plantas, combate direto a esse mecanismo de resistência por meio de inibição da enzima é pouco vantajoso pois prejudicará também a produção da lavoura. Logo, monitoramento desse tipo de resistência é primordial no caso dos fungos e a sua impossibilidade de ocorrer no caso da malária é de relevância ímpar. (LI, 2024; LUCAS, HAWKINS, & FRAAIJE, 2015; WOOD; HOLLOMON, 2003)

Sabendo das limitações das espécies de *Plasmodium* aos mecanismos de resistência observados para os fungos, compostos que façam a inibição do complexo do citocromo bc1 como descrito são bastante interessantes para tentativas de tratamento da malária, em especial porque os protozoários não possuem a enzima oxidase alternativa e portanto não têm uma alternativa do ciclo da respiração celular completa como se observa nos fungos. Pensando no exemplo da atovaquona (**Figura 3**), e considerando que a cadeia respiratória é essencial para o funcionamento pleno dos organismos, a margem de alterações estruturais possíveis no alvo é, portanto, relativamente pequena, pois alterações muito proeminentes na estrutura do complexo do citocromo bc1 podem gerar instabilidades estruturais e perdas de eficiência de produção de ATP de forma geral, o que implica numa redução da eficiência metabólica do organismo e portanto uma redução de fatores como reprodução celular, que em contrapartida facilita o combate do protozoário pelo sistema imune do hospedeiro. (LUCAS, HAWKINS, & FRAAIJE, 2015; FISHER, 2012; JACOBSEN; HUSEN; SOLOV'YOV, 2021)

Assim, o desenvolvimento de compostos que usem o sítio ativo descrito do complexo do citocromo BC1 como alvo são de muito interesse na tentativa de seu uso aliado às terapias já existentes para combate das cepas de *Plasmodium* resistentes aos demais tratamentos e terapias combinadas. Entretanto, o maior fator limitante na sua aplicação está relacionado a pouca variação estrutural observada no complexo respiratório mitocondrial dos organismos eucariontes, já que a inibição de parte vital da cadeia respiratória acaba por ocorrer também para o organismo hospedeiro, o ser humano. No caso da exploração desse mecanismo na aplicação para o tratamento de malária, este efeito é particularmente importante, mas é em parte mitigado pelos ciclos reprodutivos elevados do protozoário causador, principalmente no ciclo eritrocítico, que permite então uma ação mais direta dos compostos no protozoário, mesmo que ainda se percebam os efeitos adversos tóxicos para o hospedeiro. (ESSER & XIA, 2024)

Mecanismos de resistência aos demais tratamentos atualmente empregados envolvem a alteração de outros aminoácidos na estrutura de enzimas afetadas pelos compostos aplicados no tratamento da malária, também sendo possível a ocorrência de mudanças no metabolismo do protozoário e ainda alterações de produção de enzimas responsáveis pela degradação de algumas funções orgânicas primordiais para o efeito terapêutico dos compostos, como o endoperóxido da família dos derivados da artemisinina (**Figura 2**). (BALIKAGALA et al., 2021)

O maior problema de resistência é observado no caso das duas espécies mais prevalentes de *Plasmodium*, *P. falciparum* e *P. vivax*, por conta principalmente da maior exposição de populações vulneráveis com pouco ou nenhum acesso a tratamento, à falha no prosseguimento de tratamentos por conta dos efeitos adversos como já exposto, e problemas de redução de presença do organismo vetor (*Anophles sp.*). Este processo de aumento da resistência gera problemas nas áreas de endemia (no continente africano para *P. falciparum* e

áreas da América do sul e Sudeste asiático para *P. vivax*), por diminuir a eficácia de tratamentos estabelecidos, e também pela pouca quantidade de alternativas, principalmente no caso da malária grave causada por *P. falciparum* e no caso de tratamento da reincidência dos casos de malária causada por *P. vivax*. (GONÇALVES; CRAVO; FERREIRA, 2014; WHO, 2022; CDC, 2024a)

Como métodos de combate a estes mecanismos, existem as técnicas de alteração e uso concomitante de terapias combinadas, mas estes métodos também tem suas limitações e apresentam ainda mais riscos de provocar surgimento de cepas multirresistentes, sendo que já existem casos documentados deste efeito no Sudeste da Ásia e na região central do continente africano (BJÖRKMAN; GIL; ALIFRANGIS, 2024). Também é importante o uso de métodos profiláticos de combate ao espalhamento da malária, uma vez que quanto menor for o risco de espalhamento das cepas resistentes para além das suas áreas endêmicas, mais fácil seu tratamento de forma focada e isolada, por meio dos métodos supracitados, com menor risco de contaminação. (WHO, 2024a; WHO, 2024b)

Alternativamente, uma maneira de amenizar o risco de cepas resistentes e aumentar o número de tratamentos disponíveis é a descoberta e uso de novos métodos terapêuticos para tratamento da malária, em que o obstáculo à medida passa a ser a velocidade com que novos compostos podem ser propostos, sintetizados e testados, uma vez que esses processo todos dependem de uma sequência complexa de etapas de propostas de substâncias, propostas de síntese e finalmente testagens *in vivo* que podem ou não resultar em compostos com atividades relevantes e finalmente a fase de testes clínicos para que seja possível a sua aplicação para tratamento de pessoas (ASHLEY; PHYO, 2018). A fase de testagem *in vitro* e testagem clínica não podem sofrer grandes alterações que desviem dos padrões definidos de testagem e aprovação de medicamentos, então a fase em que o processo pode ser agilizado é a anterior, a proposta e testagem de novos compostos com possível eficácia para o tratamento.

Uma metodologia de interesse é a aplicação da química computacional para esse fim, seja por uso de modelos de Aprendizado de Máquina (Machine Learning), análise de dados experimentais por meio de sistemas de correlacionamento, aplicação de modelos de IA (inteligência artificial) ou ainda uso de algoritmos de cálculo para docagem molecular em alvos selecionados (NEVES et al., 2020; NCUBE et al., 2024).

Há muitas formas de testagem e análise de compostos por metodologias computacionais, mas para o interesse deste trabalho, será detalhado o processo de docagem molecular em sítio ativo específico, performada considerando a metodologia descrita por Okada Jr. e colaboradores, considerando a macromolécula alvo (o complexo do citocromo bc1) como rígida e realização de dobramentos e alterações estruturais apenas das moléculas de teste. Para o tratamento da malária, a macromolécula analisada teve sua viabilidade como alvo para tratamento elucidada e discutida pensando no uso tradicional para a lavoura, então usando como modelo a estrutura 3CX5 do PDB (Protein Data Bank), do citocromo de *Saccharomyces cerevisiae*, foi considerado o sítio ativo como a região esférica de 10 Å ao redor da região de interação do ligante cocrystalizado estigmatelina A, um ligante com ação inibidora do complexo BC1 já conhecida. (SOLMAZ, 2008; OKADA-JUNIOR et al., 2018)

RESULTADOS E DISCUSSÃO

METODOLOGIA DE ANÁLISE COMPUTACIONAL

Com base na estrutura fitalimídica proposta por Okada-Júnior e colaboradores, foi feita a proposta de variações estruturais a fim de gerar 48 possíveis moléculas com potenciais interações com o citocromo selecionado. Suas estruturas consistiam em: um sistema fitalimídico, em que uma amina aromática substituída ou anel piridínico aminado foram acoplados no carbono da estrutura base, entrando no lugar onde está R^1 (**Figura 5**) e uma cadeia lateral acoplada ao NH lateral em lugar de R^2 (**Figura 5**); variando-se as posições dos substituintes nas aminas de acoplamento, a posição do N nos sistemas piridínicos e o tipo de cadeia lateral que se acoplava. A variação de substituintes e da posição do N foram realizadas buscando variar a estrutura do sistema eletrônico, enquanto a variação de R^2 foi feita buscando alterar a interação com o sítio ativo do citocromo.

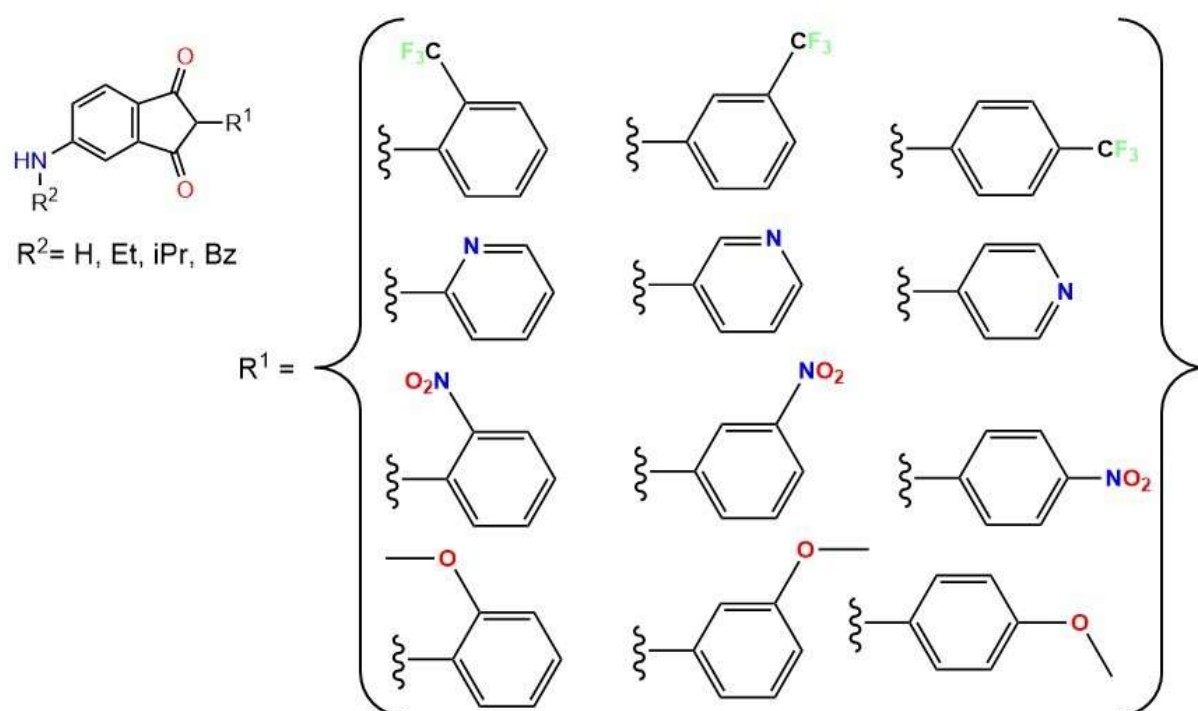


Figura 5: Esquema de estrutura das 48 moléculas propostas. Autoria própria.

Com base na interação proposta com o citocromo bc1 para a molécula de base, buscou-se estrutura análoga ao citocromo bc1 do parasita para realização dos cálculos, sendo então selecionado a de *Saccharomyces cerevisiae*, retirada do PDB (Protein Data Bank, identificada pelo código de ID: 3CX5 - Modelo da estrutura obtido por difração de raios-X, com alta resolução estrutural de 1,9 Å). Para seleção do sítio de interesse do estudo, a estrutura foi analisada e foi identificado o ligante cocrystalizado SMA 4005, correspondente à Estigmatelina A, uma molécula cuja função inibidora do citocromo em questão é conhecida e bem descrita. Assim, a base de dados livre PDBsum foi usada para determinar interações com resíduos chave do sítio de ligação selecionado para o processamento da docagem das moléculas propostas.

Por meio da função de cálculo de pKa do software Marvin Sketch (ver. 2016 - ChemAxon), foram determinados os estados de protonação de cada uma das moléculas propostas, em pH fisiológico celular normal (pH de 7,40), para selecionar qual estado seria usado para os cálculos de docagem. O estado de protonação majoritário de cada uma das 48

moléculas foi então desenhado em 3D no programa Discovery Studio Visualizer (DSV; ver. 2019), gerando arquivo *.mol2, para ser analisado e otimizado pelo método de cálculo semi-empírico PM7, via software de cálculo MOPAC2016 pela interface Mercury (ver. 2021).

O gráfico de Ramachandran da estrutura (**Figura 6**) foi plotado usando o servidor online livre Procheck, para realização da checagem da qualidade da estrutura selecionada para trabalho. De acordo com os dados do servidor, 90,5% dos resíduos da estrutura estão nas regiões mais favoráveis, 9,3% estão nas regiões permitidas, e 0,2% nas regiões proibidas do gráfico, destacando-se que nenhum dos resíduos ditos como chave para interação com sítio selecionado (segundo os dados PDBsum) encontrava-se nas regiões proibidas.

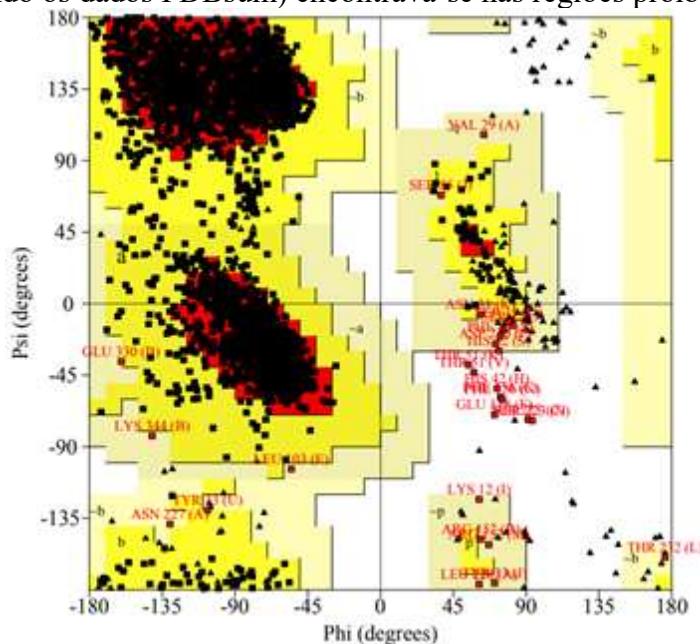


Figura 6: Gráfico de Ramachandran, retratando o posicionamento dos aminoácidos da estrutura segundo os valores de ψ e ϕ .

O processamento da macroestrutura selecionada para os cálculos de docagem foi realizado com o software GOLD (ver. 2021): foi feita a adição dos hidrogênios relevantes de resíduos de aminoácidos e feita a remoção de águas co-cristalizadas com o modelo da macromolécula que não estivessem envolvidas em interações relevantes com os aminoácidos, seguida da remoção do ligante SMA (que ocupa o sítio ativo de interesse) e outras moléculas co-cristalizadas (salvos como arquivos separados); foram então selecionadas as coordenadas XYZ do ponto definido como centro da cavidade de interação do ligante SMA ($X = 17,0371$; $Y = -21,8159$; $Z = 71,3414$), selecionou-se também o raio da cavidade ($10 \text{ \AA}$), e finalmente os parâmetros de rigidez das ligações (docagem rígida, considerando rígida a macroestrutura de interesse, havendo apenas mobilidade dos ligantes na cavidade selecionada).

Os arquivos das moléculas foram então todos otimizados, e selecionados para cálculo de determinação do valor de RMSD. Para este cálculo, estavam disponíveis as opções de funções de pontuação do programa GOLD (scoring functions): ChemPLP, ChemScore, ASP e GoldScore (SAPUNDZHI, 2019). Para selecionar qual a função a ser usada, foi feita uma análise da docagem modelo da SMA, cuja interação com o ligante compunha a análise do modelo 3CX5 utilizado, baseado em 50 iterações do cálculo, e feita a análise de qual das funções obteve a representação mais fidedigna ao modelo real. Com base nesses resultados, foi selecionada a função ChemPLP e realizou-se 50 iterações do cálculo para cada ligante proposto, de acordo com a metodologia já trabalhada por Okada-Junior et al, 2018. Após os cálculos, a

análise manual de cada um dos complexos ligante-macromolécula foi realizada, selecionando os oito mais bem pontuados pela função e determinando possíveis discrepâncias entre eles.

As tabelas a seguir mostram as interações entre os 8 melhores ligantes e os aminoácidos relevantes no raio de 10 Å que correspondem aos aminoácidos da cavidade do sítio selecionado. Destacados em amarelo estão os 2 aminoácidos chave, que foram determinados pelo PDBsum por sua interação com a SMA.

Nº de interações significativas	Ligante	Resíduos de aminoácidos presentes (Segundo dados do banco de dados PDBsum)										
		H 181	E 272	C 180	M 139	M 295	I 125	I 147	Y 279	V 146	P 271	L 275
10	CF3_META_3								+5			
10	N_META_1											
9	N_META_4						+5	+5		+5	+5	+5
9	N_ORTO_1											
10	N_PARA_1											
11	NITRO_META_3										+5	
12	NITRO_META_4			+5			+5	+5				
9	OME_META_4							+5		+5		+5

Tabela 1: Interações dos 8 ligantes mais bem pontuados com os aminoácidos relevantes do sítio selecionado para a macromolécula. As cores são referentes aos tipos de interação observados entre partes dos ligantes e cada um dos resíduos de aminoácidos (não estão inclusos na tabela os resíduos: ILE 122, LEU 130 e PHE 179. Uma vez que não foram observadas interações com estes resíduos); dados de cores e legenda na tabela 3.

Nº de interações significativas	Ligante	Resíduos de aminoácidos presentes (Segundo dados do banco de dados PDBsum)				
		G 143	F 278	I 269	F 296	I 299
10	CF3_META_3					
10	N_META_1					
9	N_META_4			+5		
9	N_ORTO_1					
10	N_PARA_1					
11	NITRO_META_3					
12	NITRO_META_4			+5		

Tabela 2: cont. tabela 1; interações dos 8 ligantes mais bem pontuados com os aminoácidos relevantes do sítio selecionado para a macromolécula. As cores são referentes aos tipos de interação observados entre partes dos ligantes e cada um dos resíduos de aminoácidos (não estão inclusos na tabela os resíduos: ILE 122, LEU 130 e PHE 179. Uma vez que não foram observadas interações com estes resíduos); dados de cores e legenda na tabela 3.

Nomenclatura dos ligantes: heteroátomo ou grupo ligante do substituinte R¹ (conforme a Figura 1), posição deste átomo/ligante no ciclo acoplado, natureza do ligante R² (Figura 1; 1-H, 2-Et, 3-iPr, 4-Bz). Interações que ocorreram em distâncias maiores que 5 Å, foram sinalizadas na tabela, mas não foram consideradas como relevantes, segundo BISSANTZ et. al (2010).

Para identificação do tipo de interação, as cores e o respectivo tipo de interação são dispostos na tabela a seguir:

Cor/Símbolo					
Legenda	π -alquil	Empilhamento T	π -sigma	π -enxofre	Ligação de H - doador π
					+5
	Ligação de H - carbono	Ligação de H	Interação H-halogênio	Empilhamento π -amina	Ultrapassa o limite de 5 Å

Tabela 3: Disposição de cores e legenda do tipo de interação referente para cruzamento com as tabelas 1 e 2.

A seleção destes 8 melhores candidatos foi feita considerando os ligantes com maior pontuação na função selecionada (ChemPLP), sendo que caso houvesse 2 complexos ligante-macromolécula cuja diferença de pontuação fosse menor que 1,0 unidades, a comparação manual entre eles deveria ser feita, para observar possíveis discrepâncias de posicionamento. Quando não se observou diferenças de posicionamento significativas, o complexo com maior pontuação dentre os dois foi exportado individualmente, e salvo em pasta específica, já quando houve uma mudança de posicionamento perceptível e drástica, os complexos foram exportados e salvos, identificados como A e B, para análise separada das suas interações com os resíduos chave. Para realizar a classificação e análise das interações usou-se novamente o DSV, para análise das interações individuais dos complexos ligante-macromolécula (Figura 4), permitindo a construção das tabelas de análise (Tabelas 1 a 3), onde cada um dos ligantes está listado juntamente das suas interações com os resíduos chave, sendo estas identificadas por código de cor.

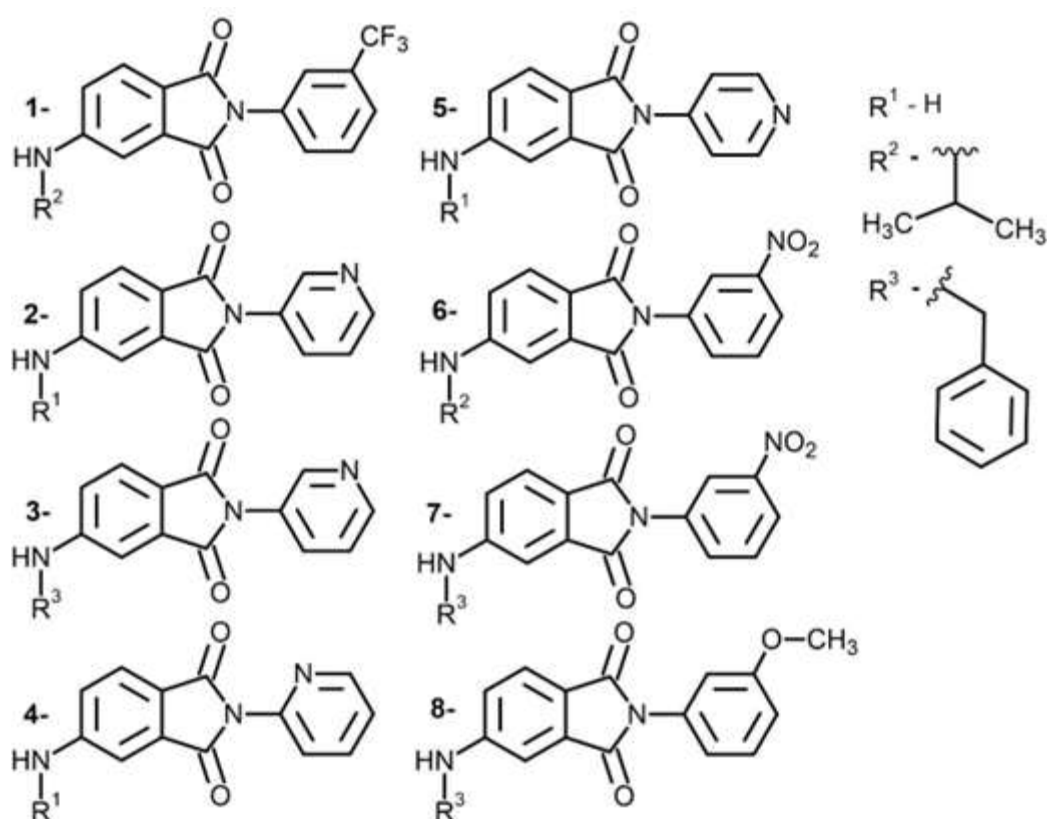


Figura 7: Melhores ligantes, segundo análise dos complexos exportados; nota-se a ausência do grupo Et como substituinte na amina da ftalimida dentre os selecionados como de melhor pontuação.

Para resolução dos empates de complexos com maior pontuação (diferença de pontuação menor que 1,0), usou-se os seguintes critérios: exclusão dos que apresentavam interações não favoráveis; Seleção dos que faziam interação com os dois aminoácidos mais importantes do sítio selecionado (H181 e E272); Seleção dos com mais interações no geral; e, para os dois casos em que houve apenas diferença de 1 ou duas interações, foi escolhido o composto que fazia as interações mais fortes.

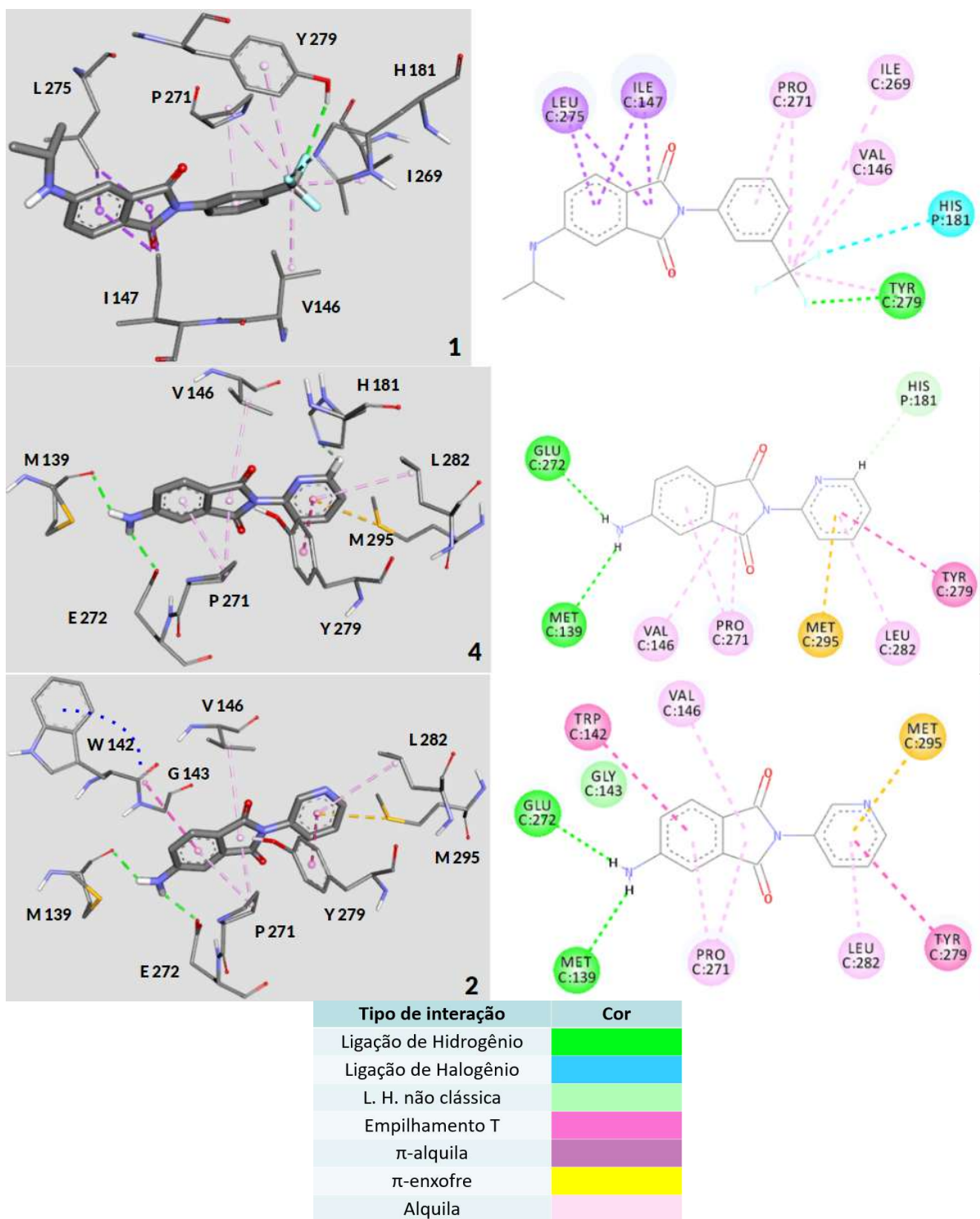


Figura 8: Interação das moléculas propostas com o sítio selecionado; a diferença das cores indica a diferença de interação; as 3 substâncias dispostas são as 3 que foram sintetizadas; L.H. não clássica se refere à interações do tipo Ligação de Hidrogênio não clássicas (interação de H que não com F, O ou N).

PROTOCOLO DE SÍNTESE

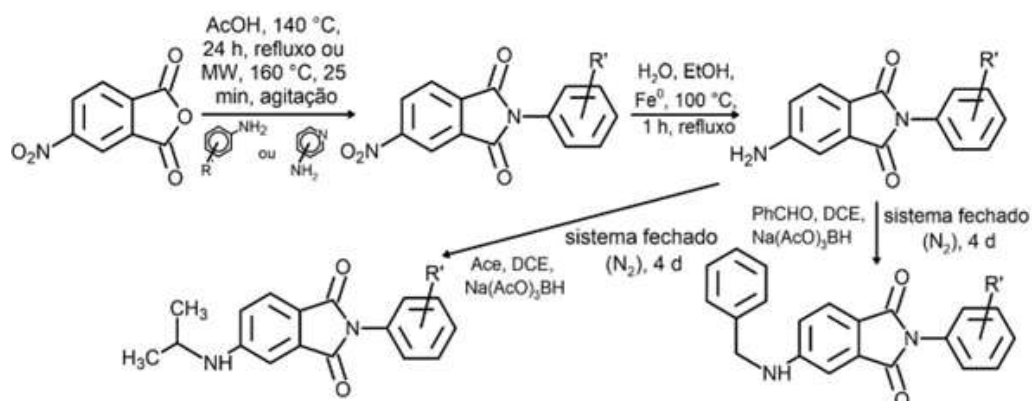


Figura 9: Esquema da metodologia de síntese proposta para as substâncias selecionadas; DCE – 1,2-dicloroetano.

O acoplamento das anilinas e aminopiridinas pela metodologia proposta de abertura do anidrido com formação de imida em condições ácidas e posterior fechamento do ciclo por ataque da molécula em si mesma foi realizado com êxito para 7 dos 8 compostos (EVTUSHENKO, 2000; DAMIT, 2008). O composto onde não se obteve produto na primeira etapa foi o composto 5 (Figura 3), que teria o produto resultante do acoplamento da 4-aminopiridina com o anidrido 4-nitroftálico; o rendimento desta reação de acoplamento foi da faixa de 4 a 5% usando o método de síntese em reator de micro-ondas – MW, uma vez que a síntese sob aquecimento não gerou produto algum, enquanto para todas as demais substâncias, a primeira etapa teve rendimento da ordem de 50 a 70%. Essa discrepância é atribuída a diferença do sistema eletrônico do anel da 4-aminopiridina (quando comparado ao sistema da 2- e 3-aminopiridina, que também foram utilizadas e não apresentaram este mesmo problema por conta da diferença do efeito indutivo por conta da mudança da posição do N no ciclo, um átomo bastante eletronegativo), que por conta das suas estruturas de ressonância, tem pouca tendência de reagir com o anidrido nas condições empregadas.

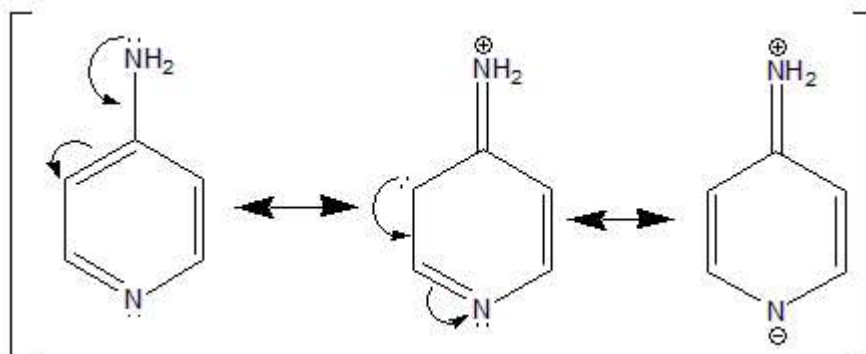


Figura 10: Estruturas de ressonância da 4-aminopiridina, com destaque para o desenvolvimento de cargas nos átomos de N do composto, que alteram a distribuição eletrônica do sistema quando comparado as formas 2 e 3 da molécula, fazendo com que o ataque da 4-aminopiridina seja prejudicado quando comparado com as demais.

Para a segunda etapa dos compostos 6 e 7, a reação de redução do grupo nitro do anidrido foi feita por reação de ferro metálico, auxiliado de cloreto de amônio e solução de etanol/água (KAHL, 2011). Este método implicava na redução também do grupo nitro do anel aromático recém-acoplado, por não ser possível melhorar os critérios de seleção, portanto, a

síntese desses produtos contendo o grupo nitro também no ciclo acoplado não foi possível. Formas de síntese alternativas foram analisadas, geralmente via redução prévia do grupo nitro do anidrido antes do processo de acoplamento, contudo essa redução não pode ser feita pelo mesmo método proposto para as demais reduções de grupos nitro a serem realizadas, uma vez que o uso de água e as condições reacionais levam a abertura do anidrido, comprometendo o rendimento, pois exige uma nova etapa subsequente, para fechamento do anel (OKADA-JUNIOR, 2018). Em sua metodologia, Okada-Júnior e colaboradores sugerem o uso de redução com catalisador de Pd-C e hidrogenador para o processo, mas essa alternativa não foi testada para essa série de compostos devido a falta do equipamento necessário (hidrogenador). Uma alternativa, a ser explorada nos próximos possíveis desenvolvimentos do projeto, envolveria o uso de SnCl_2 como reagente principal de redução na presença de um álcool, uma metodologia já conhecida e aplicada para redução do anidrido 3-nitroftálico. (CHICHA et al., 2013).

Para a etapa de redução das substâncias, excluindo as supracitadas por conta de seus respectivos problemas, foi obtido êxito, resultando em 2 dos produtos (substâncias 2 e 4, que não apresentam etapa 3), com um rendimento final médio de 40% para ambas. O composto 1, agora com sua anilina acoplada e grupo nitro reduzido, foi então a primeira substância em que se realizou a etapa final, a aminação redutiva (AFANASYEV, 2019), sendo essa a molécula selecionada devido ao menor grupo acoplado na amina e a energia de ativação da acetona sendo menor segundo a estrutura da molécula se comparada ao benzaldeído. Para a etapa de aminação, apenas essa referida substância foi sintetizada e caracterizada com êxito nas duas realizações do processo, com rendimento médio próximo de 30% observado.

Para a purificação dos compostos, foram empregados os métodos para os quais se tinham recursos em mãos, sendo realizados processo de cromatografia em coluna (FE: sílica; FM: AcOEt/Hex 50/50) com observação dos dados de CCD para escolha dos solventes e pensando na presença de resíduos de reagentes e tentativas de recristalização, estas sem obter êxito por conta de não haver uma boa combinação de solventes que resultasse em boa recuperação. Mesmo após a purificação, devido a semelhança química das moléculas com alguns dos seus reagentes, ainda se observaram resíduos destes (embora em pequena quantidade) nas etapas seguintes de identificação, e para melhora desse processo de purificação, mais estudos com outras misturas de solventes seriam necessários, embora a mistura usada tenha sido caracterizada como a melhor nos testes realizados via CCD.

Para a identificação e caracterização dos compostos, foram considerados os parâmetros seguintes: seu fator de retenção (R_f) em CCD, seu ponto de fusão (PF), análise espectrométrica de IV e RMN (^1H e ^{13}C). Não foi possível a realização da identificação e caracterização de nenhum intermediário do composto 5, devido à baixa massa de produto obtida em ambas as tentativas de síntese, que não foi suficiente para realização de nenhuma das análises.

MATERIAIS E MÉTODOS DE SÍNTESE

Etapa reacional 1: Na proporção de 1:1,2 do anidrido 4-nitroftálico para o reagente correspondente a cada composto, partindo-se de uma massa de 0,1000 g do anidrido, foi montado o sistema reacional em um balão de fundo redondo de 10 mL; Foi adicionado a este sistema um volume de HAc (ácido acético) em quantidade para que se observasse a dissolução total dos reagentes de partida (cerca de 2,0 a 3,0 mL) em agitação magnética constante; O sistema reacional foi então aquecido em banho de óleo até a temperatura de 140 °C para início do refluxo e mantido nessas condições por 24 horas. Ao final do processo, a reação foi finalizada pela adição de água Mili-Q previamente resfriada ao sistema e transferência do balão

para um banho de gelo por 30 minutos para garantir precipitação completa do produto formado, à ser extraído por filtração a vácuo em papel de filtro já pesado.

Etapa reacional 2: Após 24 a 48 horas de secagem em dessecador com pressão reduzida e agente secante, 0,1000 g do composto preparado (intermediário 1) foi pesado e adicionado a um balão de fundo redondo de 10 mL. Seguindo a proporção 1:3:4 em equivalentes molares de: intermediário 1, NH_4Cl (cloreto de amônio) e Fe^0 (ferro metálico em pó) respectivamente, os demais sólidos foram pesados e adicionados ao balão reacional; Foram também adicionados 2 mL da mistura de solventes composta de 2,5 partes de EtOH (etanol) para 1 parte de água Mili-Q, e o sistema foi levado à temperatura de refluxo sob agitação magnética e mantido por uma hora nestas condições. Ao final do processo, o sistema foi fechado e resfriado por exposição à temperatura ambiente, e em seguida procedeu-se a extração da fase líquida por filtração em sistema de funil de Büchner (filtro de papel com camada de terra diatomácea) com adição de 2 a 4 porções de 10 mL de MeOH (metanol) ao sistema conforme necessário para lavagem da fase sólida, com as adições sendo performadas até não ser observada mais extração do produto, de cor amarela. O resultado da filtração foi transferido para um balão de volume apropriado e passou por processo de rotaevaporação para remoção dos solventes.

Etapa reacional 3: Após 3 a 5 dias de secagem em dessecador com pressão reduzida e agente secante, 0,1000 g do composto preparado (intermediário 2) foi pesado e adicionado a um balão de fundo redondo de 5 mL, seguido de uma proporção de 1,4 equivalentes molares do agente redutor $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (triacetoxiborohidreto de sódio), com posterior vedação completa do sistema e evacuação da atmosfera for fluxo constante de N_2 e saída de gás. Ao sistema fechado com atmosfera substituída foi adicionada cuidadosamente a quantia de 50 μL do composto que faria o acoplamento (neste caso, apenas a acetona foi utilizada) que correspondia a aproximadamente 2 equivalentes molares; Ainda foi adicionado, para garantir presença de solvente no sistema, um volume de 100 μL de DCM (diclorometano) desgaseificado e seco previamente com uso de CaH (hidreto de cálcio) – usado aqui em lugar do DCE (dicloroetano) indicado na **Figura 9**. O sistema reacional foi então acoplado ao fluxo de nitrogênio para garantir pressão positiva e a reação correu por 7 dias em condições de temperatura ambiente. Para o encerramento da reação foi feita a adição de uma porção de 0,5 mL de EtOH (etanol) ao sistema para destruição dos reagentes não consumidos, e foi então feita uma filtração a vácuo com uma lavagem do balão com 3 porções de 0,5 mL de DCM. A fase líquida extraída foi transferida a um balão de 5 mL e passou por processo de rotaevaporação para remoção dos solventes, sendo o balão contendo o produto transferido para um dessecador sob pressão reduzida e mantido nessas condições por 2 a 3 dias antes de serem feitos os testes identificativos.

Em cada etapa, uma placa de TLC (cromatografia em camada delgada – CCD) foi usada para garantir que não haviam sobras dos reagentes nos produtos extraídos, e em casos que isso foi observado, processos de purificação adicionais foram realizados, como a realização de recristalizações e de cromatografias em coluna. A mistura de solventes apropriada tanto para a TLC (cromatografia em camada delgada – CCD) como a CC (cromatografia em coluna) foi uma mistura 1:1 de acetato de etila e hexano, que se observou como a melhor mistura em termos de separação dos reagentes dos produtos relevantes conforme os valores de R_f que serão expostos na **Tabela 5**.

Para destinação dos resíduos sólidos, foi feita a separação daqueles contendo restos de solventes orgânicos clorados e não-clorados e foram destinados ao descarte correto realizado pelo instituto de química. Já para os resíduos líquidos, que correspondiam em sua maioria a misturas de solvente, foi feito o armazenamento nas condições descritas no manual de manejo de resíduos da unidade para que seu descarte correto possa ser efetuado.

CARACTERIZAÇÃO E PURIFICAÇÃO

A seguir os dados coletados para os pontos de fusão e o Rf observado em CCD (AcOEt/Hex 50/50) serão expostos em tabelas:

Tabela 4: Relação dos pontos de fusão (faixas de fusão) dos compostos sintetizados; N.R. - medições não realizadas, por não haver substância sintetizada; Células marcadas com um traço denotam etapas que não foram executadas por outros impedimentos;

Composto	Etapa 1	Etapa 2	Etapa 3
1	147,9-148,6 °C	174,6-175,3 °C	117,8-118,4 °C
2	223,4-224,7 °C	240,8-241,9 °C	Não há
3	223,4-224,7 °C	240,8-241,9 °C	-
4	182,3-183,4 °C	238,7-239,2 °C	Não há
5	N. R.	N. R.	Não há
6	195,2-196,1 °C	N. R.	N.R.
7	195,2-196,1 °C	N. R.	N. R.
8	193,2-193,9 °C	214,9-215,3 °C	-

Os pontos fusão foram analisados em Aparelho de Ponto de Fusão MQAPF-301, sendo colocada uma pequena porção dos produtos entre duas lamínulas de vidro e então a amostra colocada no aparelho para aferir a temperatura; para todos os casos, o aparelho foi resfriado de volta à temperatura ambiente entre cada uma das análises. Os intervalos observados, para todos os casos, são faixas de fusão menores que um intervalo de 1 °C, demonstrando que a metodologia aplicada para purificação das substâncias foi eficaz, e os produtos identificados puderam ser separados.

Tabela 5: Relação dos valores de Rf observado em CCD (Cromatografia em Camada Delgada) (AcOEt/Hex 50/50 – Acetato de Etila/Hexano 50/50) ; N.R. - medições não realizadas, por não haver substância sintetizada; Células marcadas com um traço denotam etapas que não foram executadas por outros impedimentos;

Composto	Etapa 1	Etapa 2	Etapa 3
1	0,400	0,475	0,420
2	0,255	0,200	Não há
3	0,255	0,200	-
4	0,375	0,255	Não há
5	N. R.	N. R.	Não há
6	0,625	N. R.	N.R.
7	0,625	N. R.	N. R.
8	0,675	0,425	-

Os fatores de retenção foram analisados em placa de alumínio recoberta em Sílica gel 60 F₂₅₄, sendo as manchas correspondentes aos produtos de cada uma das etapas identificadas em câmara de revelação UV nos comprimentos de onda 264 nm e 365 nm, para os produtos da etapa 1 e das etapas 2 e 3, respectivamente.

Para o infravermelho, apenas os espectros dos três produtos obtidos serão expostos, com destaque apenas para as bandas de estiramento mais relevantes; para a coleta dos dados, foi feita a secagem prévia das amostras em dissecador, e a análise das amostras sólidas foi feita com pastilha de KBr.

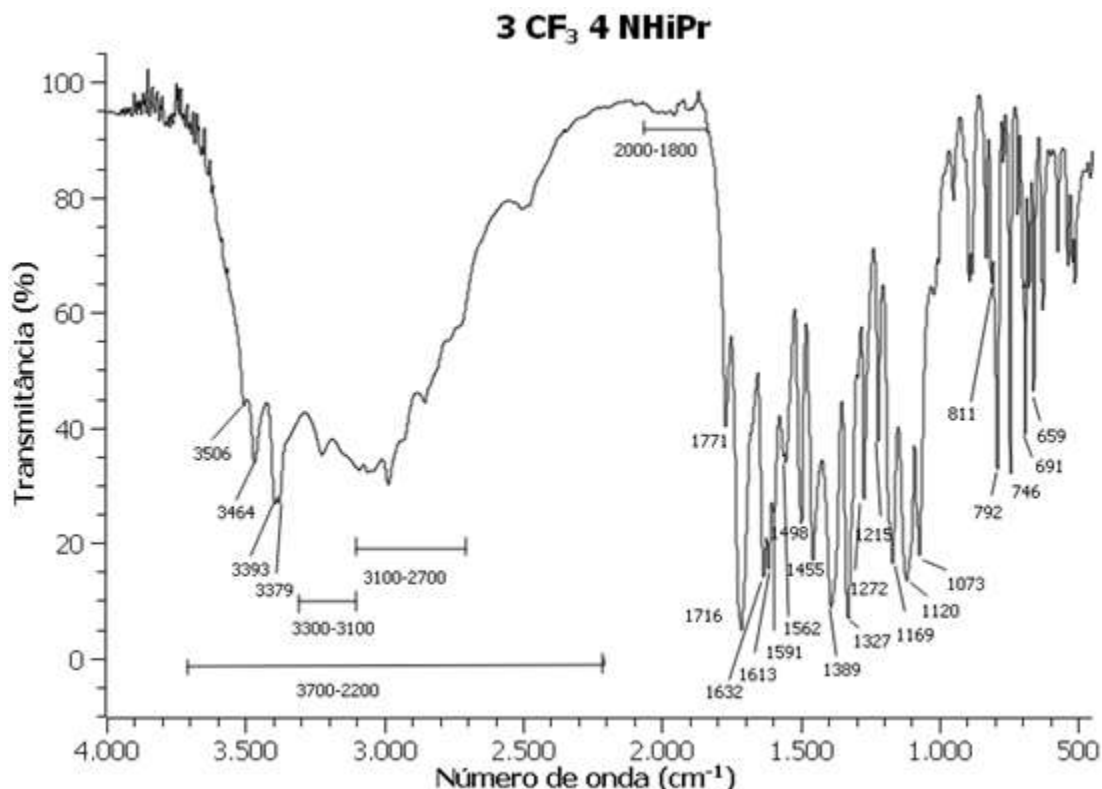


Figura 11: Espectro de Infravermelho do produto 1.

Abaixo serão apontadas as bandas relevantes e as porções identificáveis da molécula possivelmente responsáveis: 3393, 3379 – Estiramento N-H de amina secundária, desdobrado em 2 sinais próximos pelo efeito do sistema π ; 3300-2700 – Estiramento C-H sp^2 e sp^3 sobreposto de estiramento O-H de águas residuais; 1716 - Banda de estiramento C=O referente às duas ligações duplas C=O conjugadas com o ciclo; 1632, 1613 - Banda referente ao movimento de deformação angular no plano da amina primária; 1498 - Estiramento C-F característico de composto fluorado; 792, 746 - Deformação angular C-H fora do plano, característico de sistema aromático 1,2,4 substituído; 691, 659 - Deformação angular C-H fora do plano, característico de sistema aromático monosubstituído.

Para o produto 1, foi possível identificar no espectro de IV resíduos de reagentes empregados na terceira etapa da síntese proposta, a saber: água (vinda da umidade do ar), ácido acético (vindo do agente redutor $\text{Na}(\text{AcO})_3\text{BH}$) e o intermediário 2 (vindo da segunda etapa da síntese). Para os resíduos, à exceção da água, não houve sucesso na sua retirada, mesmo após tentativa de purificação por cromatografia em coluna, provavelmente devido à similaridade química do intermediário 2 com o composto final da síntese e a cristalização do ácido acético com fortes ligações de hidrogênio com os hidrogênios polares das aminas.

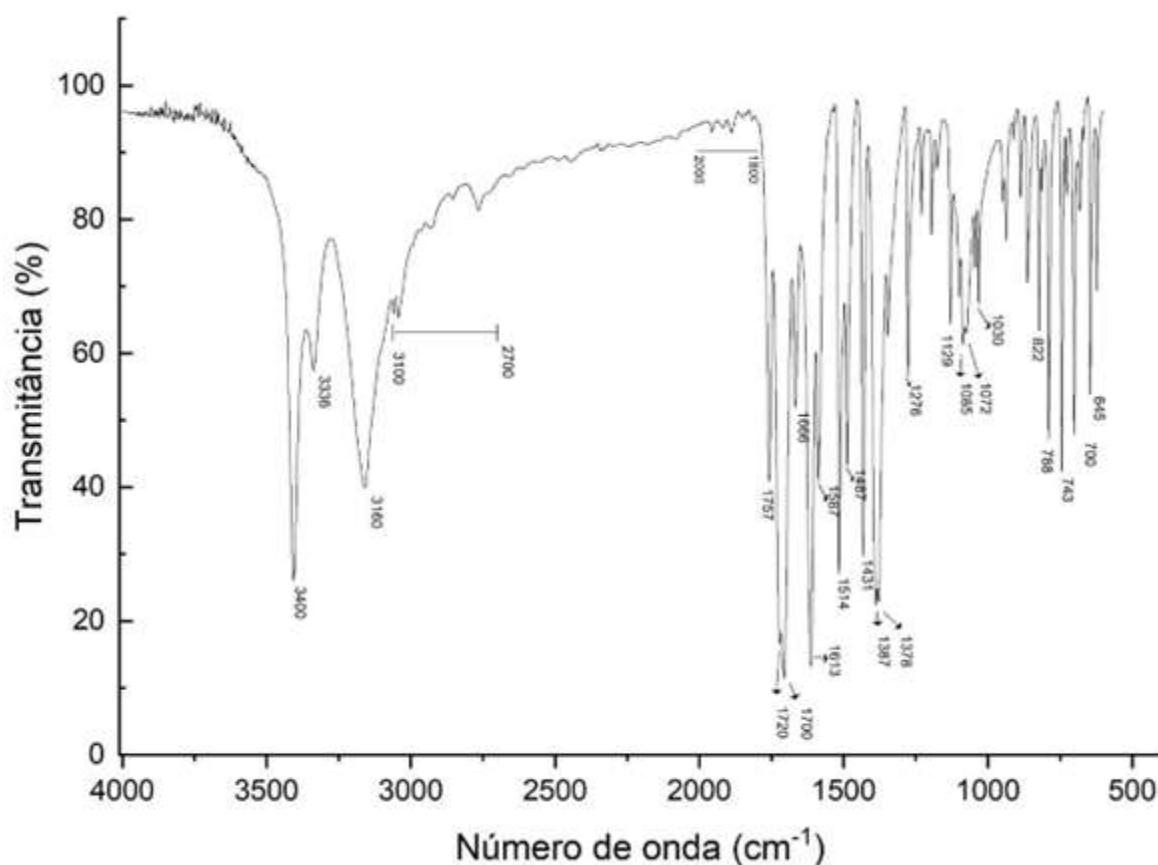


Figura 12: Espectro de Infravermelho do produto 2.

Abaixo serão apontadas as bandas relevantes e as porções identificáveis da molécula possivelmente responsáveis: 3400, 3336 – Estiramento N-H de amina primária; 3160 – Estiramento N-H de amina primária, fazendo ligação de H; 3100-2700 - Banda de estiramento característico de C-H sp^2 , sobreposto pela banda de estiramento N-H de amina primária; 1720, 1700 - Estiramento C=O característico de ligações duplas C=O conjugadas com sistema de elétrons π aromático; 1613 – Banda do movimento de deformação angular dos átomos de H da amina primária; 822, 788 - Deformação angular C-H fora do plano, característico de sistema aromático 1,2,4 substituído; 743, 700 - Deformação angular C-H fora do plano, característico de sistema aromático monosubstituído.

Para o produto 2, foi possível identificar no espectro de IV resíduos de reagentes empregados na primeira etapa da síntese proposta, a saber: água (vinda da umidade do ar), metanol (o solvente empregado na separação do composto do sistema de síntese), ácido acético (vindo da primeira etapa da síntese) e resíduos do anidrido 4-nitro-ftálico, o reagente de partida. Para os resíduos, à exceção da água, houve sucesso parcial da sua retirada, após uma tentativa de purificação por cromatografia em coluna, mas que não foi completa provavelmente devido à similaridade química do anidrido com o composto final, e no caso do ácido acético, devido a sua cristalização formando fortes ligações de hidrogênio com os hidrogênios polares das aminas.

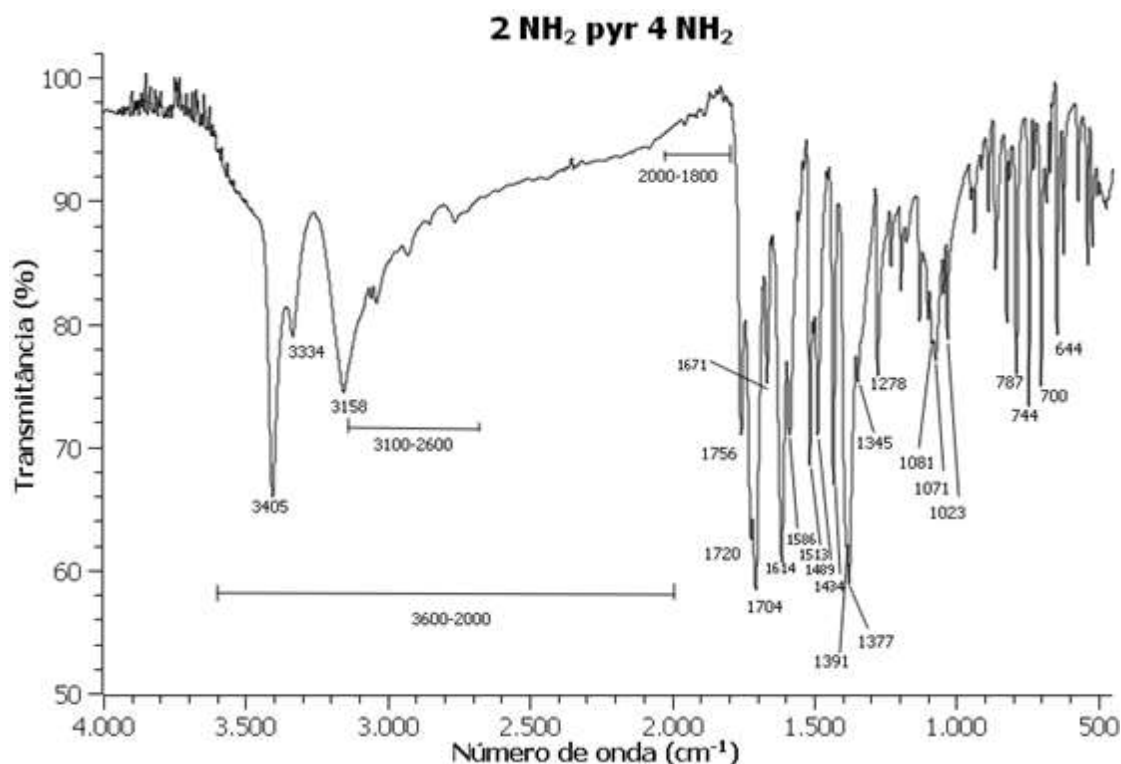


Figura 13: Espectro de Infravermelho referente ao produto 4.

Abaixo serão apontadas as bandas relevantes e as porções identificáveis da molécula possivelmente responsáveis: 3405, 3334 - Estiramento N-H de amina primária; 3158 - Estiramento N-H de amina primária, característico de composto realizando Ligação de H em estado sólido; 1720, 1704 - Estiramento C=O característico de ligação dupla C=O conjugada com sistema de elétrons π aromático; 1614 - Banda do movimento de deformação angular dos átomos de H da amina primária; 787, 744 - Deformação angular C-H fora do plano, característico de sistema aromático 1,2,4 substituído; 700, 644 - Deformação angular C-H fora do plano, característico de sistema aromático monosubstituído.

Para o produto 4, foi possível identificar no espectro de IV resíduos de reagentes empregados na primeira etapa da síntese proposta, a saber: água (vinda da umidade do ar), metanol (o solvente empregado na separação do composto do sistema de síntese), ácido acético (vindo da primeira etapa da síntese) e resíduos do anidrido 4-nitro-ftálico, o reagente de partida. Para os resíduos, à exceção da água, houve sucesso parcial da sua retirada, após uma tentativa de purificação por cromatografia em coluna, mas que não foi completa provavelmente devido à similaridade química do anidrido com o composto final, e no caso do ácido acético, devido a sua cristalização formando fortes ligações de hidrogênio com os hidrogênios polares das aminas.

Para o RMN, da mesma forma que para o IV, será mostrado um conjunto como exemplo, neste caso, apenas o conjunto de espectros obtidos para o produto 2:

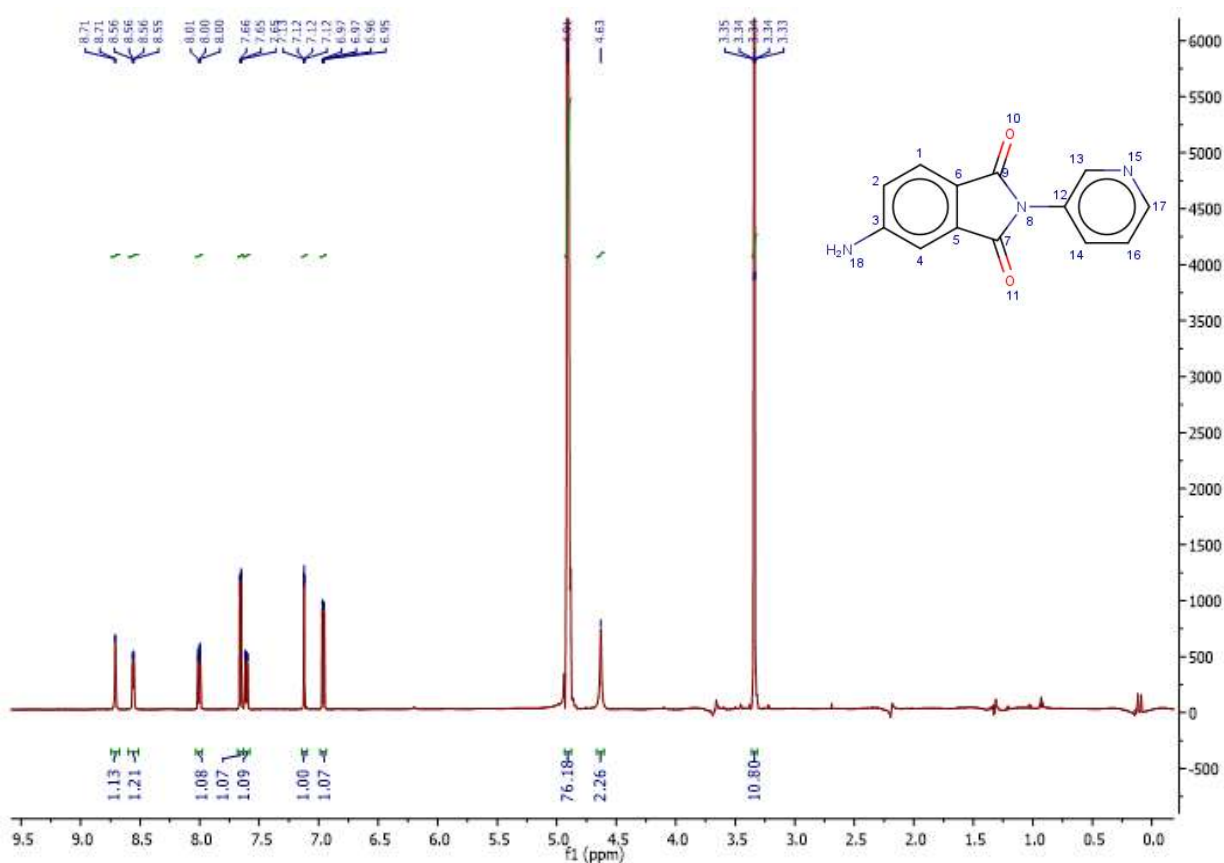


Figura 14: Espectro de RMN de ^1H do produto 2, com imagem da molécula com seus átomos enumerados, para indicação dos sinais no espectro.

Atribuição dos hidrogênios e da sua multiplicidade, segundo os átomos que estão ligados de acordo com a numeração da figura 8: 4,63 ppm, s – 18; 6,97 ppm, dd – 2; 7,12 ppm, dd – 4; 7,61 ppm, dd – 16; 7,65 ppm, dd – 17; 8,01 ppm, dt – 14; 8,56 ppm, dd – 1; 8,71 ppm, d – 13; Sinal em 4,91 ppm corresponde ao H de HDO de resíduo; Sinal em 3,34 ppm corresponde ao solvente deuterado MeOH (D_4);

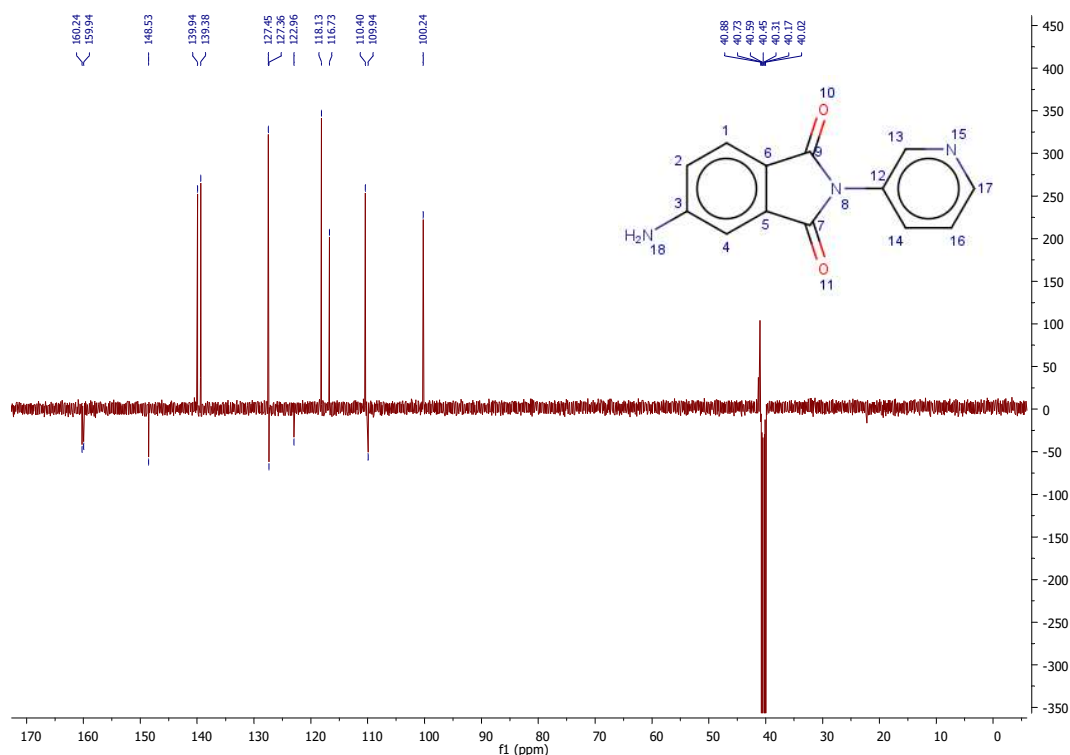


Figura 15: Espectro de RMN de ^{13}C do produto 2; a numeração indicada na molécula na figura 9 ainda será usada para atribuir os carbonos aos sinais.

Atribuição dos carbonos segundo a numeração da figura 9: 100,24 ppm – C4; 109,94 ppm – C12; 110,40 ppm – C2; 116,73 ppm – C14; 118,13 ppm – C16; 122,96 ppm – C5; 127,36 ppm – C6; 127,45 ppm – C1; 139,38 ppm – C17; 139,94 ppm – C13; 148,53 ppm – C3; 159,94 ppm – C9; 160,24 ppm – C7; O sinal em 40,45 ppm corresponde ao solvente deuterado DMSO (D_6);

Os espectros foram realizados em aparelho Bruker Avance III HD 600, com uso de tubos apropriados que foram previamente limpos para retirada de qualquer resíduo de solvente presente; para preparo das amostras foram usados solventes deuterados DMSO- d_6 e MeOH- d_4 da MERK.

CONCLUSÃO

A metodologia computacional foi usada com eficácia para seleção das oito melhores substâncias dentre as 50 possíveis moléculas iniciais, provando que o método facilita o processo de *screening* de substâncias relevantes, por meio de uma análise de suas possíveis interações com as macromoléculas de interesse para uma análise que se pautar na interação do ligante proposto com a macromolécula em questão, assim sendo um método funcional e mais rápido de seleção que a seleção manual ou teste de todas as substâncias propostas.

Para afirmar mais sobre a eficiência do método, as substâncias sintetizadas necessitariam de testes farmacológicos *in vitro* para que a sua eficácia observada *in silico* possa ser averiguada e estudada *in vitro*, e permitindo então o cruzamento desses dados para a validação numérica do método para além dos resultados de síntese.

Foi realizada a síntese de três das oito substâncias finais com êxito, sendo obtidas moléculas intermediárias para as demais substâncias, à exceção de intermediários do produto 5 por razões discutidas de distribuição eletrônica, havendo ainda a elucidação das possíveis razões para as dificuldades de prosseguimento do uso das metodologias propostas por meio de análises das dificuldades observadas nos processos.

Pela análise dos dados de RMN e infravermelho dos produtos obtidos, observou-se alguma presença de reagentes residuais no que se considerava produto puro, demonstrando que ainda seriam necessárias mais etapas de purificação ou alterações no método de purificação empregado, que poderiam ser alterações de solventes ou uso de outras metodologias como recristalização.

Mais testes identificativos, como espectrometria de massas, ainda são necessários para confirmar que as substâncias foram sintetizadas como proposto, mas para fins do que se queria demonstrar, o trabalho teve êxito em mostrar o processo de síntese com auxílio de testagem *in silico* como sendo mais ágil na geração de resultados concretos com base em cálculos empíricos que permite uma pré-seleção de candidatos a síntese dentro de um grupo muito maior de possíveis moléculas de teste.

REFERÊNCIAS

- ACHAN, J. et al. **Quinine, an old anti-malarial drug in a modern world: role in the treatment of malaria.** *Malaria Journal*, v. 10, n. 1, 24 maio 2011.
- AFANASYEV, Oleg I. et al. **Reductive amination in the synthesis of pharmaceuticals.** *Chemical reviews*, v. 119, n. 23, p. 11857-11911, 2019.
- ALGHAMDI, J. M. et al. **Recent Advances in the Treatment of Malaria.** *Pharmaceutics*, v. 16, n. 11, p. 1416–1416, 4 nov. 2024.
- ANWAR, M. Introduction: An Overview of Malaria and Plasmodium. In: **Drug Targets for *Plasmodium Falciparum*: Historic to Future Perspectives.** 2024. Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-19-4484-0_1
- DE ARAÚJO, R. V. et al. **Malaria and tuberculosis as diseases of neglected populations: state of the art in chemotherapy and advances in the search for new drugs.** *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 115, p. e200229, 30 set. 2020.
- ASHLEY, E. A.; PHYO, A. P. **Drugs in Development for Malaria.** *Drugs*, v. 78, n. 9, p. 861–879, 25 maio 2018.
- BALIKAGALA, B. et al. **Evidence of Artemisinin-Resistant Malaria in Africa.** *New England Journal of Medicine*, v. 385, n. 13, p. 1163–1171, 23 set. 2021.
- BARTLETT, D. W. et al. **The strobilurin fungicides.** *Pest Management Science*, v. 58, n. 7, p. 649–662, 2002.
- BISSANTZ, C. et al.; **A Medicinal Chemist's Guide to Molecular Interactions.** *Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 53, nº 14, p. 5061–5084, mar. 2010.
- BJÖRKMAN, A.; GIL, P.; ALIFRANGIS, M. **Alarming *Plasmodium falciparum* resistance to artemisinin-based combination therapy in Africa: the critical role of the partner drug.** *The Lancet Infectious Diseases*, 1 jul. 2024.
- BLASER, M., J. (ed.). **Principles and Practice of Infectious Diseases.** 8. ed. [S. l.]: Saunders/Elsevier, 2015. v. 1, cap. 40, p. 495-509.
- CDC. **Drug Resistance in the Malaria-Endemic World.** 2024a. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/malaria/php/public-health-strategy/drug-resistance.html>>. Acesso em: 16 de dez 2024.
- CDC. **Malaria Vaccines.** 2024b. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/malaria/php/public-health-strategy/malaria-vaccines.html>>.
- CHICHA, H. et al. **Reduction of 3-nitrophthalic anhydride by SnCl₂ in different alcohols: a simple synthesis of alkyl 1, 3-dihydro-3-oxo-2, 1-benzisoxazole-4-carboxylates.** *Tetrahedron Letters*, v. 54, n. 12, p. 1569-1571, 2013.
- CROFTS, A. R. **The cytochrome bc₁ complex: function in the context of structure.** *Annual Review of Physiology*, v. 66, p. 689–733, 2004.
- DAMIT, E. F.; ARIFFIN, A.; KHAN, M. N; **Kinetics and mechanism of the cleavage of phthalic anhydride in glacial acetic acid solvent containing aniline.** *The Journal of Organic Chemistry*, v. 73, n. 23, p. 9303-9313, 2008.
- DRAPER, S. J. et al. **Malaria Vaccines: Recent Advances and New Horizons.** *Cell Host & Microbe*, v. 24, n. 1, p. 43–56, jul. 2018.
- DUFFY, P. E. et al. **Malaria vaccines: a New Era of Prevention and Control.** *Nature Reviews Microbiology*, v. 22, p. 1–17, 18 jul. 2024.
- ESSER, L. ; XIA, D.; **Mitochondrial Cytochrome bc 1 Complex as Validated Drug Target: A Structural Perspective.** *Tropical Medicine and Infectious Disease*, v. 9, n. 2, p. 39, 2024.

EVTUSHENKO, Y. M. et al. **The reaction of maleic and phthalic anhydrides with 2-methylimidazole.** Chemistry of Heterocyclic Compounds, v. 36, n. 9, p. 1054-1057, 2000.

FENG, Y. et al. **An Overview of Strobilurin Fungicide Degradation: Current Status and Future Perspective.** Frontiers in Microbiology, v. 11, 12 mar. 2020.

FISHER, N.; MEUNIER, B.; BIAGINI, G. A.; **The cytochrome bc1 complex as an antipathogenic target.** Febs Letters, v. 594, n. 18, p. 2935-2952, 2020.

FISHER, N. et al. **Cytochrome b Mutation Y268S Conferring Atovaquone Resistance Phenotype in Malaria Parasite Results in Reduced Parasite bc1 Catalytic Turnover and Protein Expression.** Journal of Biological Chemistry, v. 287, n. 13, p. 9731–9741, mar. 2012.

GONÇALVES, L. A.; CRAVO, P.; FERREIRA, M. U. **Emerging Plasmodium vivax resistance to chloroquine in South America: an overview.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 109, n. 5, p. 534–539, ago. 2014.

HALDAR, K. et al. **Malaria: Mechanisms of Erythrocytic Infection and Pathological Correlates of Severe Disease.** Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease, v. 2, n. 1, p. 217–249, fev. 2007.

JACOBSEN, L.; HUSEN, P.; SOLOV'YOV, I. A. **Inhibition Mechanism of Antimalarial Drugs Targeting the Cytochrome bc1 Complex.** Journal of Chemical Information and Modeling, v. 61, n. 3, p. 1334–1345, 22 fev. 2021.

KAHL, T. et al. "Aniline". **Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry**, ed. 1, Wiley, 2011. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/14356007.a02_303.pub2>.

KAMIYA, T. et al. **Targeting malaria parasites inside mosquitoes: ecoevolutionary consequences.** Trends in Parasitology, out. 2022.

LI, J. et al. **Alternative Oxidase: From Molecule and Function to Future Inhibitors.** ACS omega, 4 mar. 2024.

LUCAS, J. A., HAWKINS, N. J. & FRAAIJE, B. A. **The evolution of fungicide resistance.** Advances in Applied Microbiology, vol. 90, p. 29–92, 2015

MAIGA, F. O. et al. **Artemisinin-based combination therapy for uncomplicated Plasmodium falciparum malaria in Mali: a systematic review and meta-analysis.** Malaria Journal, v. 20, n. 1, 30 ago. 2021.

MCCARTHY, J., S.; PRICE, R., M.; Antimalarial Drugs. In: BENNETT, J., E. (ed.); DOLIN, R. (ed.) BLASER, M., J. (ed.). **Principles and Practice of Infectious Diseases.** 8. ed. [S. l.]: Saunders/Elsevier, 2015. v. 1, cap. 40, p. 495-509.

MCCONNELL, E. V. et al. **Targeted Structure–Activity Analysis of Endochin-like Quinolones Reveals Potent Qi and Qo Site Inhibitors of Toxoplasma gondii and Plasmodium falciparum Cytochrome bc1 and Identifies ELQ-400 as a Remarkably Effective Compound against Acute Experimental Toxoplasmosis.** ACS Infectious Diseases, v. 4, n. 11, p. 1574–1584, 17 ago. 2018.

MCGUINNESS, S. L. et al. **Streamlining malaria prevention recommendations for travellers: current and future approaches.** Journal of Travel Medicine, v. 31, n. 8, 21 ago. 2024.

MINISTÉRIO DA SAÚDE, **Plano Nacional de Eliminação da Malária:** Elimina Malária Brasil. Distrito Federal, 2022. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/svsa/malaria/politicas-de-saude/elimina-malaria-brasil-plano-nacional-de-eliminacao-da-malaria>>.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Malária. [s.d.]. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/m/malaria>>.

MOTTA, F. C. et al. **The parasite intraerythrocytic cycle and human circadian cycle are coupled during malaria infection.** Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, v. 120, n. 24, 6 jun. 2023.

NCUBE, N. B.; TUKULULA, M.; GOVENDER, K. G.; **Leveraging computational tools to combat malaria: assessment and development of new therapeutics.** Journal of Cheminformatics, v. 16, n. 1, p. 50, 2024.

NEVES, B. J. et al. **Deep Learning-driven research for drug discovery: Tackling Malaria.** PLoS computational biology, v. 16, n. 2, p. e1007025, 2020.

OKADA-JUNIOR, C., Y. et al.; **Phthalimide Derivatives with Bioactivity against Plasmodium falciparum: Synthesis, Evaluation, and Computational Studies Involving bc1 Cytochrome Inhibition.** ACS Omega, vol. 3, nº 8, p. 9424-9430, ago. 2018.

OLIVEIRA, A. R. M. DE; SZCZERBOWSKI, D. **Quinina: 470 anos de história, controvérsias e desenvolvimento.** Química Nova, v. 32, p. 1971–1974, 2009.

DE OLIVEIRA, T. Y. K.; **Evidence of resistance to strobilurin fungicides in contemporary populations of *Mycosphaerella fijiensis* and *M. musicola* from banana plantations in Southeastern Brazil.** Orientador: Paulo Cezar Ceresini & Silvino Intra Moreira. 2022. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - IFEIS - Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, Ilha Solteira, São Paulo, 2022. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/239015>>. Acesso em: 13 nov. 2024.

PLOWE, C. V. **Malaria chemoprevention and drug resistance: a review of the literature and policy implications.** Malaria Journal, v. 21, n. 1, 24 mar. 2022.

SAPUNDZHI, F.; PRODANOVA, K.; LAZAROVA, M.; **Survey of the scoring functions for protein-ligand docking.** AIP Conference Proceedings. AIP Publishing, 2019.

SATO, S.; **Plasmodium: a brief introduction to the parasites causing human malaria and their basic biology.** Journal of physiological anthropology, v. 40, n. 1, p. 1, 2021.

SIREGAR, J. E. et al. **Direct evidence for the atovaquone action on the Plasmodium cytochrome bc1 complex.** Parasitology international, v. 64, n. 3, p. 295-300, 2015.

SMITH, R. C.; VEGA-RODRÍGUEZ, J.; JACOBS-LORENA, M. **The Plasmodium bottleneck: malaria parasite losses in the mosquito vector.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 109, n. 5, p. 644–661, ago. 2014.

SOLMAZ, S. R. N.; HUNTE, C. **Structure of Complex III with Bound Cytochrome c in Reduced State and Definition of a Minimal Core Interface for Electron Transfer.** Journal of Biological Chemistry, v. 283, n. 25, p. 17542–17549, jun. 2008.

UMUMARARUNGU, T. et al. **Recent developments in antimalarial drug discovery.** Bioorganic & Medicinal Chemistry, v. 88-89, p. 117339, 6 jun. 2023.

VENUGOPAL, K. et al. **Plasmodium asexual growth and sexual development in the haematopoietic niche of the host.** Nature Reviews Microbiology, v. 18, n. 3, p. 177-189, 2020.

WANI, M. A.; DHAKED, D. K. **Targeting the cytochrome bc1 complex for drug development in *M. tuberculosis*: review.** Molecular Diversity, 11 nov. 2021.

WICHT, K. J.; MOK, S.; FIDOCK, D. A. **Molecular Mechanisms of Drug Resistance in Plasmodium falciparum Malaria.** Annual Review of Microbiology, v. 74, n. 1, p. 431–454, 8 set. 2020.

WHO, **Global Malaria Programme operational strategy**. 2024a. Disponível em: <https://media.malariaworld.org/9789240090149_eng_ff95d987d8.pdf>. Acesso em: 13 de dez 2024.

WHO. **Malaria**: Fact sheets. 2024b. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/malaria>> Acesso em: 15 de ago. 2024.

WHO, **Strategy to respond to antimalarial drug resistance in Africa**. 2022. Disponível em: <<https://mesamalaria.org/wp-content/uploads/2022/11/9789240060265-eng.pdf>>. Acesso em 16 de dez 2024.

WOOD, P. M.; HOLLOMON, D. W. **A critical evaluation of the role of alternative oxidase in the performance of strobilurin and related fungicides acting at the Qo site of Complex III**. Pest Management Science, v. 59, n. 5, p. 499–511, 2003.

YOUNG, D. H.; MEUNIER, B. **Characterization of mutants with single and combined Qi and Qo site mutations in *Saccharomyces cerevisiae* reveals interactions between the picolinamide fungicide CAS-649 and azoxystrobin**. Pesticide Biochemistry and Physiology, v. 189, p. 105313–105313, 5 dez. 2022.

APÊNDICE A – RELAÇÃO DE ESPECTROS DE INFRAVERMELHO

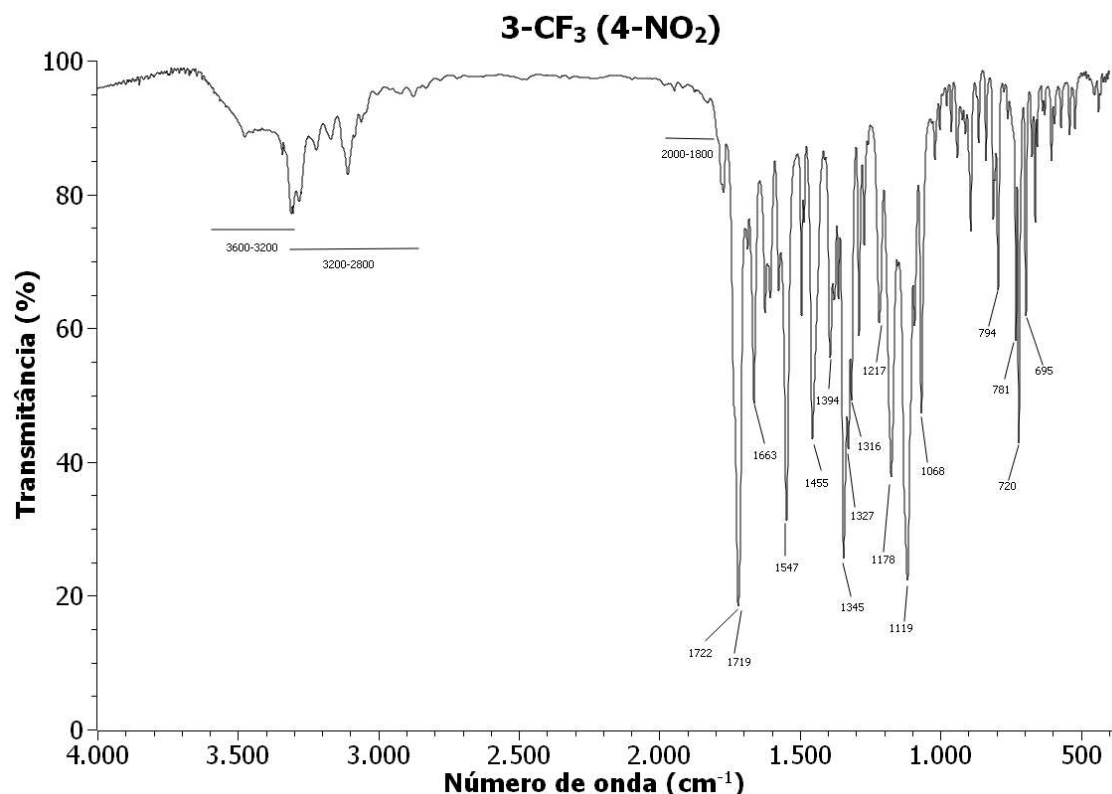


Figura 16: Espectro de Infravermelho referente ao intermediário 1 da primeira etapa da síntese proposta para o composto 1.

- 3600-3200- Estiramento típico de grupamento -OH, proveniente de resíduos de água/Ácido acético.
- 3200-2800 - Banda de estiramento característico de C-H sp².
- 2000-1800 - Bandas de sobretons de C-H aromático.
- 1722 - Estiramento C=O, referente às ligações duplas C=O conjugadas com o sistema de elétrons π aromático, com valor deslocado pela presença do NO₂.
- 1719 - Estiramento C=O, referente às ligações duplas conjugadas com o sistema de elétrons π aromático, com valor deslocado pela presença do NO₂.
- 1663 - Estiramento assimétrico de N=O característica de nitrocomposto, sobreposto do estiramento fora do plano de C=C, característico de lig. dupla de carbonos conjugada em ciclos, ambas as bandas deslocadas pela presença de 2 ligações duplas C=O próximas.
- 1547 - Estiramento simétrico de N=O característica de nitrocomposto, sendo o sinal da banda deslocado pela conjugação com o sistema aromático e as 2 ligações duplas C=O próximas.
- 1455 – Estiramento C-F característico de composto fluorado, deslocado pela ligação com sistema aromático.
- 1394 – Banda de estiramento secundárias do estiramento C=C de anel aromático, resultante da movimentação de elétrons π pela conjugação com sistema aromático.

- 1327- Banda de estiramento típico C-O, deslocada pela movimentação de elétrons π por conjugação com sistema aromático, podendo ser sobreposta de bandas secundárias do estiramento C=C de anel aromático, resultante da movimentação de elétrons π no sistema.
- 1316 - Banda de estiramento típico C-O, deslocada pela movimentação de elétrons π por conjugação com sistema aromático, podendo ser sobreposta de bandas secundárias do estiramento C=C de anel aromático, resultante da movimentação de elétrons π no sistema.
- 1217 – Estiramento típico C=C de aromático, sendo evidenciado pelo efeito do ligante CF_3 .
- 1178 - Banda de estiramento secundárias do estiramento C=C de anel aromático, resultante da movimentação de elétrons π pela conjugação com sistema aromático.
- 1119 - Banda de estiramento típico C-O, deslocada pela movimentação de elétrons π por conjugação com sistema aromático, podendo ser sobreposta de bandas secundárias do estiramento C=C de anel aromático, resultante da movimentação de elétrons π no sistema.
- 1068 - Banda de estiramento típico C-O, deslocada pela movimentação de elétrons π por conjugação com sistema aromático, podendo ser sobreposta de bandas secundárias do estiramento C=C de anel aromático, resultante da movimentação de elétrons π no sistema.
- 794 - Deformação angular C-H fora do plano, característico de sistema aromático 1,2,4 substituído.
- 781 - Deformação angular C-H fora do plano, característico de sistema aromático 1,2,4 substituído.
- 720 - Deformação angular C-H fora do plano, característico de sistema aromático monossustituído.
- 695 - Deformação angular C-H fora do plano, característico de sistema aromático monossustituído.

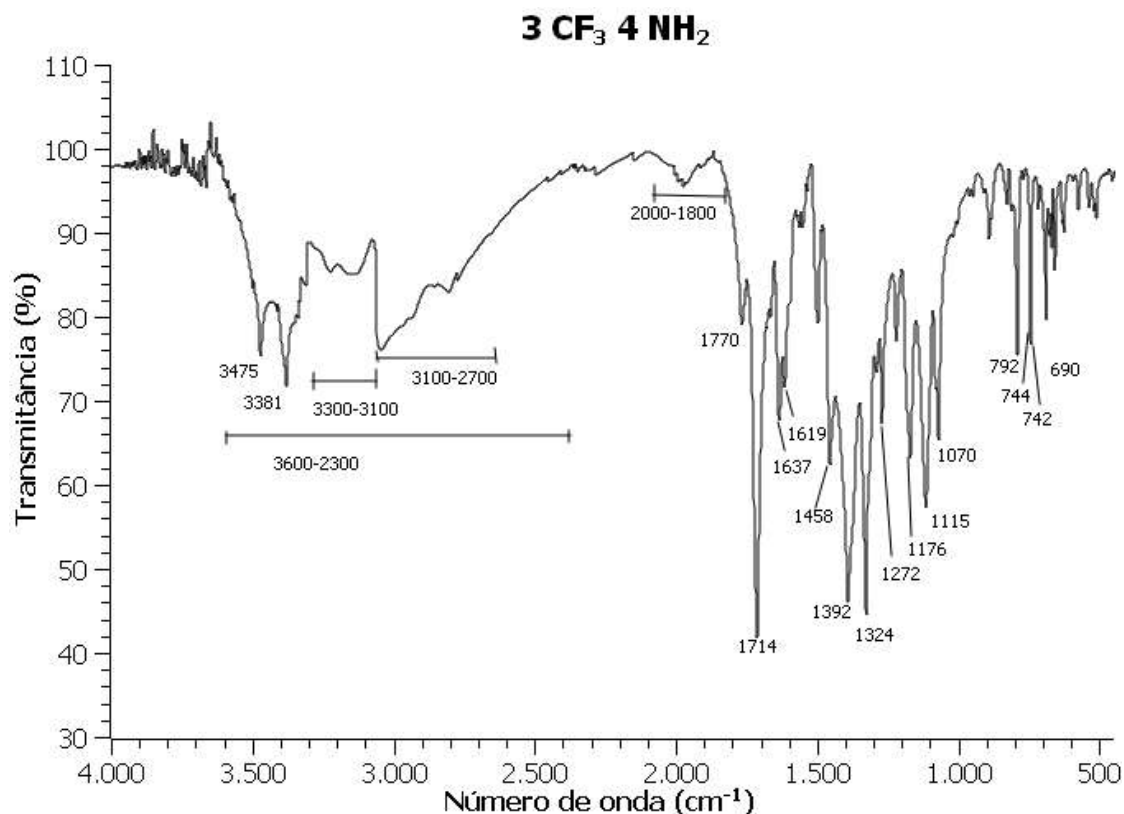


Figura 17: Espectro de Infravermelho referente ao intermediário 2, da segunda etapa da síntese proposta para o composto 1.

- 3600-2300 - Estiramento típico de grupamento -OH, proveniente de resíduos de água/metanol/Ácido acético.
- 3475 - Estiramento N-H de amina primária.
- 3381 - Estiramento N-H de amina primária.
- 3300-3100 – Banda de estiramento característico de C-H sp².
- 3100 - Estiramento N-H de amina primária, fazendo lig. de H em estado sólido.
- 3100-2700 - Banda de estiramento característico de C-H sp².
- 2000-1800 - Bandas de sobretons (overtone) de C-H aromático.
- 1770 - Banda de estiramento C=O de resíduo de Ácido acético, deslocada por conjugação com as carbonilas presentes no composto.
- 1714 - Estiramento C=O, referente às ligações duplas C=O conjugadas com o sistema de elétrons π aromático.
- 1714 - Estiramento C=O, referente às ligações duplas C=O conjugadas com o sistema de elétrons π aromático.
- 1637 – Banda referente ao movimento de tesoura dos átomos de H da amina primária.
- 1619 – Estiramento N=O de resíduo do nitrocomposto que não foi reduzido no processamento da reação.
- 1458 - Estiramento C-F característico de composto fluorado, deslocado pela ligação com sistema aromático.

- 1392 - Banda de estiramento típico C-O, deslocada pela movimentação de elétrons π por conjugação com sistema aromático, podendo ser sobreposta de bandas secundárias do estiramento C=C de anel aromático, resultante da movimentação de elétrons π no sistema.
- 1324 - Banda de estiramento típico C-O, deslocada pela movimentação de elétrons π por conjugação com sistema aromático, podendo ser sobreposta de bandas secundárias do estiramento C=C de anel aromático, resultante da movimentação de elétrons π no sistema.
- 1272- Estiramento C-O característico de álcool primário, referente ao solvente metanol.
- 1176 - Banda de estiramento combinada C-C-O, resultante do acoplamento dos estiramentos C-O com os C-C adjacentes do sistema aromático.
- 1115 - Banda de estiramento combinada C-C-O, resultante do acoplamento dos estiramentos C-O com os C-C adjacentes do sistema aromático, deslocada pela influência retiradora de elétrons da amina primária ligada ao aromático.
- 1070 - Banda de estiramento combinada C-O, característica de ácido carboxílico, referente ao resíduo de ácido acético.
- 792 - Deformação angular C-H fora do plano, característico de sistema aromático 1,2,4 substituído.
- 744 - Deformação angular C-H fora do plano, característico de sistema aromático 1,2,4 substituído.
- 742 - Deformação angular C-H fora do plano, característico de sistema aromático monossustituído.
- 690 – Deformação angular C-H fora do plano, característico de sistema aromático monossustituído.

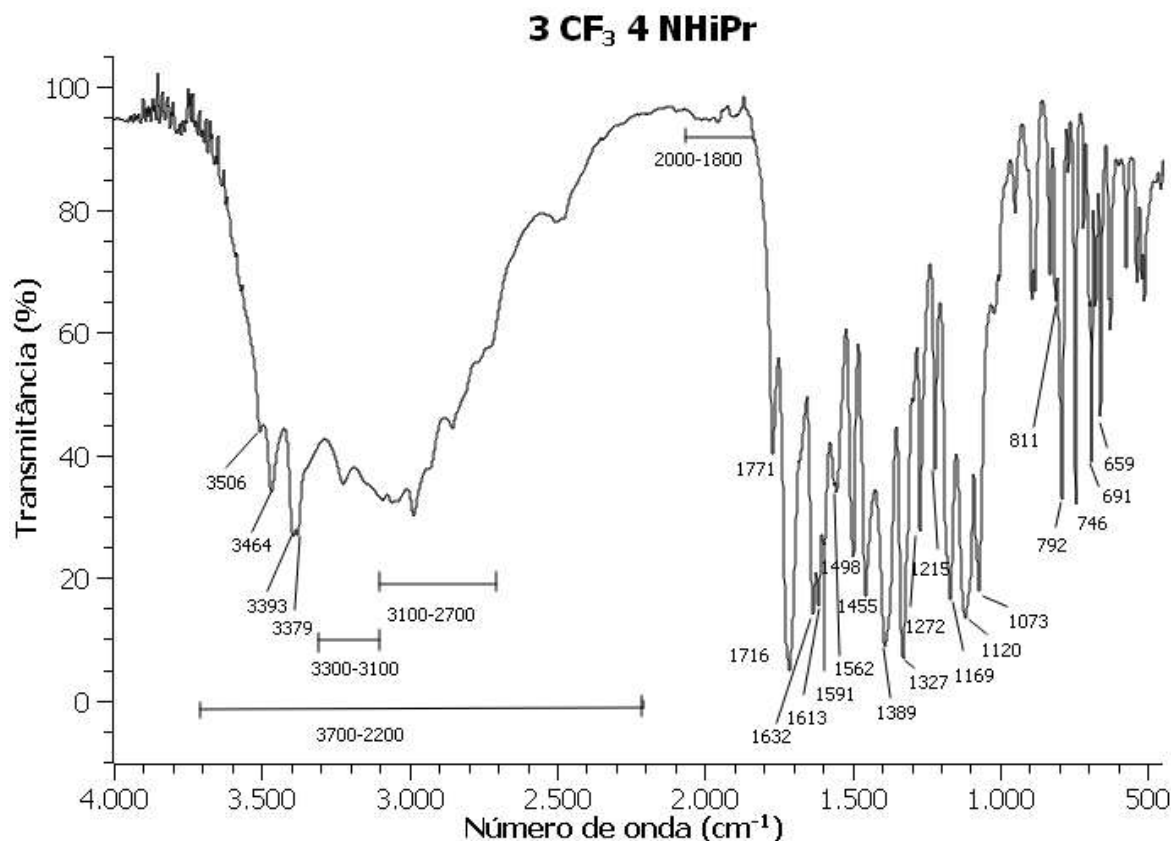


Figura 18: Espectro de Infravermelho do produto final 1.

- 3700-2200 – Estiramento típico de grupamento -OH, proveniente de resíduos de água/metanol/Ácido acético.
- 3506 – Estiramento N-H de amina primária, referente a resíduos do reagente de partida.
- 3464 – Estiramento N-H de amina primária, referente a resíduos do reagente de partida.
- 3393 – Estiramento N-H de amina secundária, desdobrado em 2 sinais próximos pelo efeito do sistema π .
- 3379 – Estiramento N-H de amina secundária, desdobrado em 2 sinais próximos pelo efeito do sistema π .
- 3300-3100 – Estiramento C-H sp^3 sobreposto da banda de estiramento O-H.
- 3100-2700 – Estiramento C-H sp^2 sobreposto da banda de estiramento O-H.
- 2000-1800 – Bandas de sobretons (overtone) de C-H aromático.
- 1771 – Banda de estiramento C=O de resíduo de Ácido acético, deslocada por conjugação com as carbonilas presentes no composto.
- 1716 – Banda de estiramento C=O referente às duas ligações duplas C=O conjugadas com o sistema de elétrons π aromático.
- 1632 – Banda referente ao movimento de tesoura dos átomos de H da amina primária.
- 1613 – Banda referente ao movimento de tesoura dos átomos de H da amina primária.
- 1591 – Estiramento N=O de resíduo de nitrocomposto que não foi reduzido.
- 1562 – Estiramento N=O de resíduo de nitrocomposto que não foi reduzido.

- 1498 - Estiramento C-F característico de composto fluorado, deslocado pela ligação com sistema aromático.
- 1455 – Banda referente à deformação angular C-O-H de ácido carboxílico, referente ao resíduo de ácido acético, que advém do agente redutor empregado.
- 1389 - Banda de estiramento típico C-O, deslocada pela movimentação de elétrons π por conjugação com sistema aromático, podendo ser sobreposta de bandas secundárias do estiramento C=C de anel aromático, resultante da movimentação de elétrons π no sistema.
- 1327 - Banda de estiramento típico C-O, deslocada pela movimentação de elétrons π por conjugação com sistema aromático, podendo ser sobreposta de bandas secundárias do estiramento C=C de anel aromático, resultante da movimentação de elétrons π no sistema.
- 1272 - Estiramento C-O característico de álcool primário, referente ao solvente metanol.
- 1215 - Estiramento C-O característico de ácido carboxílico, referente ao resíduo de ácido acético gerado pelo agente redutor.
- 1169 - Banda de estiramento combinada C-C-O, resultante do acoplamento dos estiramentos C-O com os C-C adjacentes do sistema aromático.
- 1120 - Banda de estiramento combinada C-C-O, resultante do acoplamento dos estiramentos C-O com os C-C adjacentes do sistema aromático.
- 1073 - Banda de estiramento C-O característica de ácido carboxílico, referente ao resíduo de ácido acético gerado pelo agente redutor.
- 811 – Estiramento C=C aromático, sobreposto às bandas de estiramento secundárias C-H de aromático substituído.
- 792 - Deformação angular C-H fora do plano, característico de sistema aromático 1,2,4 substituído.
- 746 - Deformação angular C-H fora do plano, característico de sistema aromático 1,2,4 substituído.
- 691 - Deformação angular C-H fora do plano, característico de sistema aromático monossustituído.
- 659 - Deformação angular C-H fora do plano, característico de sistema aromático monossustituído.

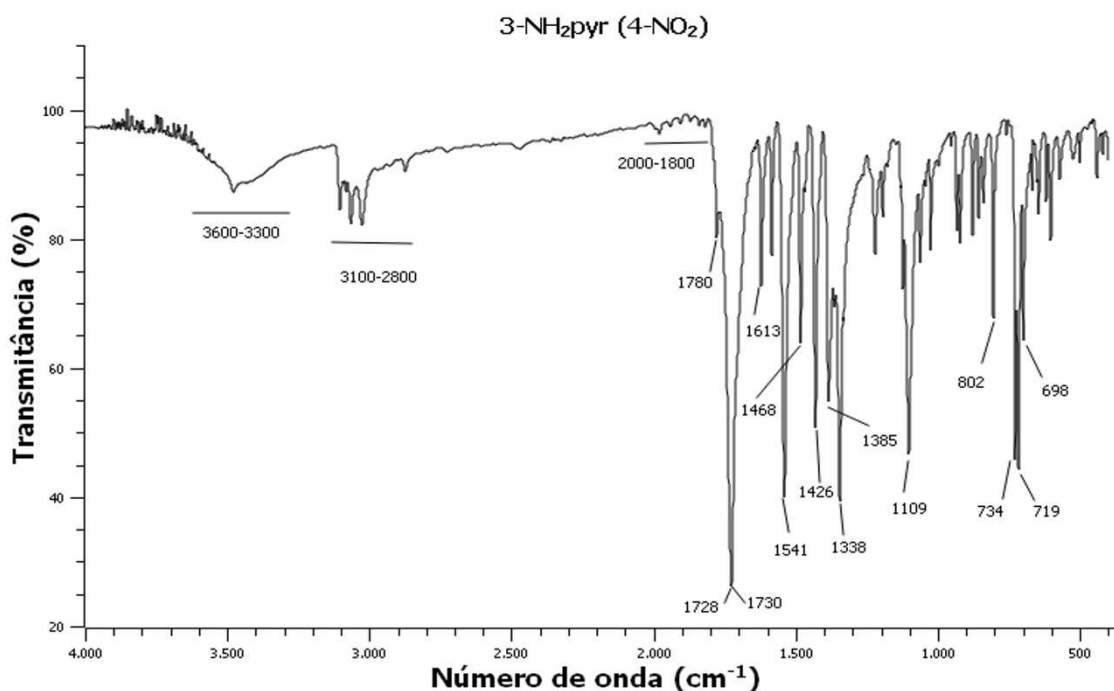


Figura 19: Espectro de Infravermelho referente ao intermediário da etapa 1 da síntese proposta para os compostos 2 e 3.

- 3600-3300 – Estiramento típico de grupamento -OH, proveniente de resíduos de água/Ácido acético.
- 3100-2800 – Banda de estiramento característico de C-H sp².
- 2000-1800 – Bandas de sobretons (overtone) de C-H aromático.
- 1780 – Banda de combinação característica de lig. C-N de amina, de baixa intensidade por se tratar de amina terciária.
- 1728 – Estiramento C=O característico de cetona, conjugada com sistema de elétrons π aromático, deslocado pela presença do grupo NO₂.
- 1730 – Estiramento C=O característico de cetona conjugada com sistema de elétrons π aromático, deslocado pela presença do grupo NO₂.
- 1613 – Estiramento assimétrico de N=O característica de nitrocomposto, sobreposto do estiramento fora do plano de C=C, característico de lig. dupla de carbonos conjugada em ciclos, ambas as bandas deslocadas pela presença de 2 ligações duplas C=O próximas.
- 1541 – Banda de estiramento típico C-O, com característica de ligação simples, resultante da movimentação de elétrons π pela conjugação com sistema aromático, deslocada também por essa conjugação.
- 1468 – Estiramento simétrico de N=O característica de nitrocomposto, sendo o sinal da banda deslocado pela conjugação com as 2 ligações duplas C=O próximas.
- 1426 – Estiramento C=C em anel aromático.
- 1385 – Banda secundária do estiramento C=C de anel aromático, sobreposta de estiramento típico C-C-O, com característica de ligação simples, resultante da movimentação de elétrons π pela conjugação com sistema aromático.

- 1338 – Banda de estiramento C-N aromática, da ligação do nitrocomposto no sistema aromático.
- 1109 – Banda de estiramento combinada C-C-O, resultante do acoplamento com as vibrações C-C adjacentes, com intensidade alta devido a sobreposição de 2 sistemas de vibração.
- 802 – Deformação angular C-H fora do plano, característico de sistema aromático 1,2,4 substituído.
- 734 – Deformação angular C-H fora do plano, característico de sistema aromático 1,2,4 substituído.
- 719 – Deformação angular C-H fora do plano, característico de sistema aromático monossustituído.
- 698 – Deformação angular C-H fora do plano, característico de sistema aromático monossustituído.

3-NH₂pyr (4-NH₂)

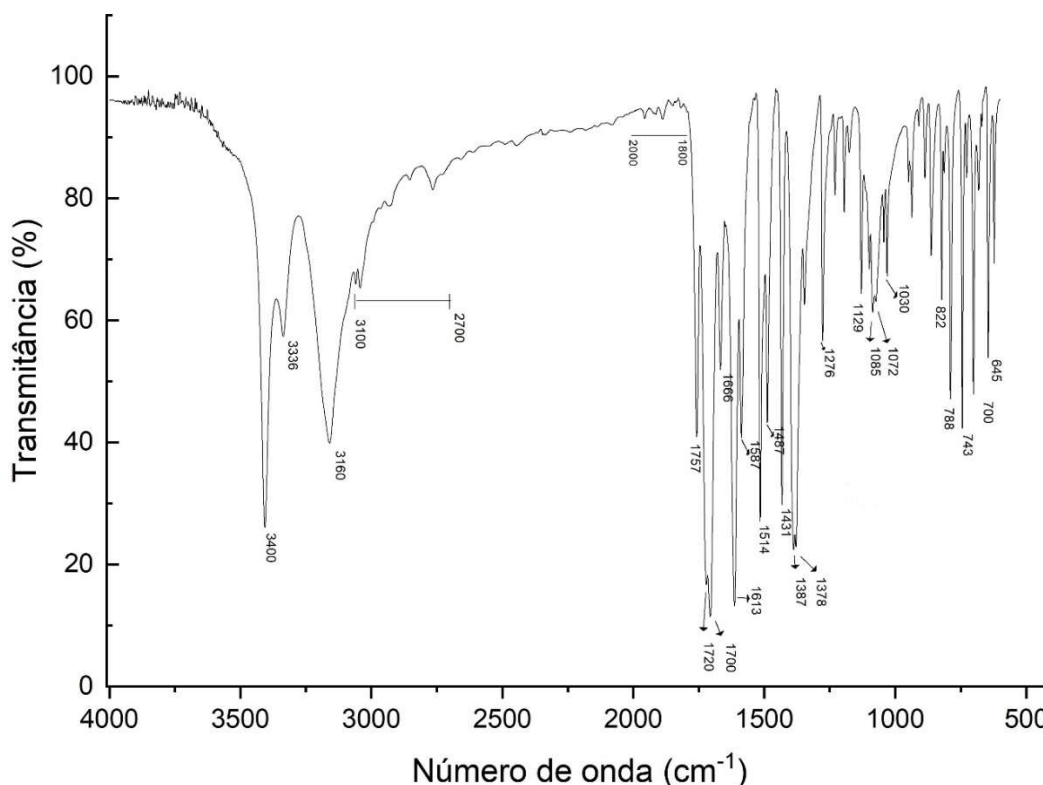


Figura 20: Espectro de Infravermelho referente ao produto final 2.

- 3600-2700 - Estiramento típico de grupamento -OH, proveniente de resíduos de água/Ácido acético.
- 3400 – Estiramento N-H de amina primária.
- 3336 - Estiramento N-H de amina primária.
- 3160 – Estiramento N-H de amina primária, fazendo lig. de H em estado sólido.
- 3100-2700 - Banda de estiramento característico de C-H sp², sobreposto pela banda de estiramento N-H de amina primária.
- 2000-1800 - Bandas de sobretons (overtone) de C-H aromático.
- 1757 - Banda de combinação característica de lig. C-N de amina, referente a amina reduzida com o grupo R¹ e a amina terciária do acoplamento.
- 1720 - Estiramento C=O característico de cetona conjugada com sistema de elétrons π aromático.
- 1700 - Estiramento C=O característico de cetona conjugada com sistema de elétrons π aromático.
- 1666 – Estiramento C=C característico de lig. dupla de carbonos conjugada em ciclos, deslocada pela presença de 2 ligações duplas C=O próximas.
- 1613 – Banda correspondente ao movimento de tesoura dos átomos de H da amina primária formada na reação de redução.
- 1587 – Estiramento fora do plano C=C de sistema aromático.

- 1514 – Banda de estiramento típico C-O, com característica de ligação simples, resultante da movimentação de elétrons π pela conjugação com sistema aromático, deslocada também por essa conjugação.
- 1487 – Banda de estiramento típico C-O, com característica de ligação simples, resultante da movimentação de elétrons π pela conjugação com sistema aromático, deslocada também por essa conjugação.
- 1431 – Estiramento C-N fora do plano, característico de amina aromática terciária.
- 1387 – Banda de estiramento típico C-C-O, com característica de ligação simples, resultante da movimentação de elétrons π pela conjugação com sistema aromático, sobreposta com banda secundária do estiramento C=C de anel aromático e banda de estiramento C-N no plano do sistema piridínico.
- 1378 – Banda de estiramento típico C-C-O, com característica de ligação simples, resultante da movimentação de elétrons π pela conjugação com sistema aromático, sobreposta com banda secundária do estiramento C=C de anel aromático e banda de estiramento C-N no plano do sistema piridínico.
- 1276 – Banda de estiramento C-N característica de amina primária.
- 1129 – Banda de estiramento combinada C-C-O, resultante do acoplamento da vibração C-O com as vibrações C-C adjacentes.
- 1085 – Banda de estiramento combinada C-C-O, resultante do acoplamento da vibração C-O com as vibrações C-C adjacentes.
- 1072 – Banda de estiramento da vibração C-O, resultante do deslocamento de elétrons π pelo acoplamento com o sistema aromático.
- 1030 – Banda de estiramento da vibração C-O, resultante do deslocamento de elétrons π pelo acoplamento com o sistema aromático.
- 822 - Deformação angular C-H fora do plano, característico de sistema aromático 1,2,4 substituído.
- 788 - Deformação angular C-H fora do plano, característico de sistema aromático 1,2,4 substituído.
- 743 - Deformação angular C-H fora do plano, característico de sistema aromático monossustituído.
- 700 - Deformação angular C-H fora do plano, característico de sistema aromático monossustituído.
- 645 - Deformação angular C=C/C-C de aromático fora do plano, característico de sistema aromático que seja substituído.

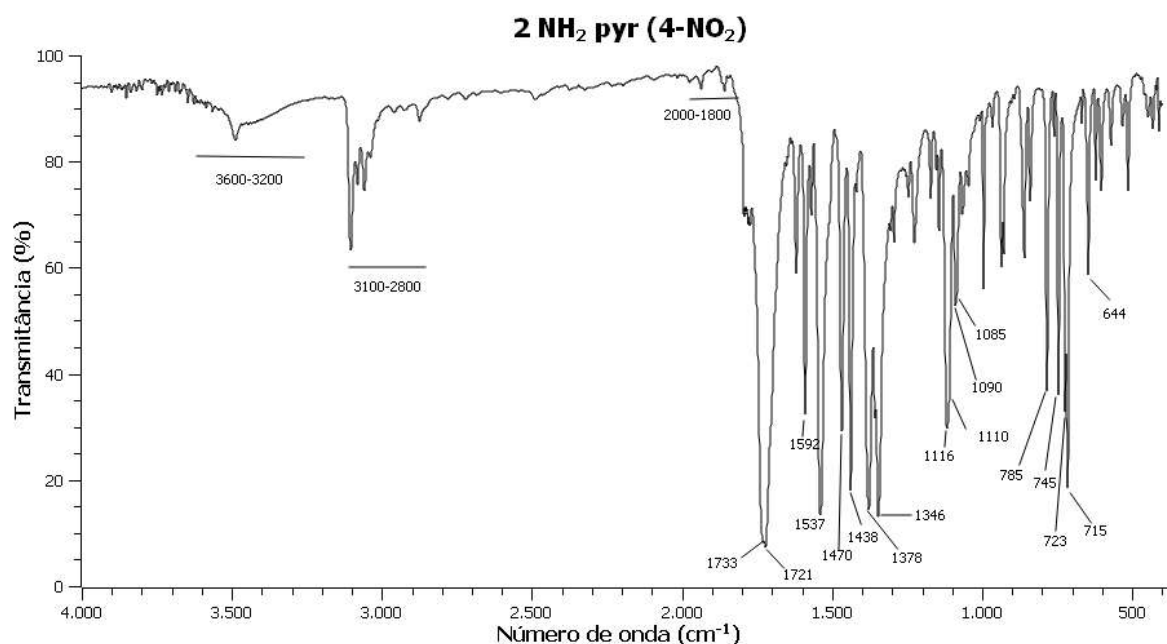


Figura 21: Espectro de Infravermelho referente ao intermediário da etapa 1 da síntese proposta para o composto 4.

- 3600-3200 - Estiramento típico de grupamento -OH, proveniente de resíduos de água/Ácido acético.
- 3100-2800 - Banda de estiramento característico de C-H sp².
- 2000-1800 - Bandas de sobretons (overtone) de C-H aromático.
- 1733 - Estiramento C=O característico de cetona conjugada com sistema de elétrons π aromático, com valor deslocado pela presença do NO₂.
- 1721 - Estiramento C=O característico de cetona conjugada com sistema de elétrons π aromático, com valor deslocado pela presença do NO₂.
- 1592 - Estiramento assimétrico de N=O característica de nitrocomposto, sobreposto do estiramento fora do plano de C=C, característico de lig. dupla de carbonos conjugada em ciclos, ambas as bandas deslocadas pela presença de 2 ligações duplas C=O próximas.
- 1537 - Banda de estiramento típico C-O, com característica de ligação simples, resultante da movimentação de elétrons π pela conjugação com sistema aromático, deslocada também por essa conjugação.
- 1470 - Estiramento simétrico de N=O característica de nitrocomposto, sendo o sinal da banda deslocado pela conjugação com as 2 ligações duplas C=O próximas.
- 1438 - Estiramento C=C em anel aromático.
- 1378 - Banda secundária do estiramento C=C de anel aromático, sobreposta de estiramento típico C-C-O, com característica de ligação simples, resultante da movimentação de elétrons π pela conjugação com sistema aromático.
- 1346 - Banda de estiramento C-N aromática, da ligação do nitrocomposto no sistema aromático.
- 1116 - Banda de estiramento combinada C-C-O, resultante do acoplamento com as vibrações C-C adjacentes.

- 1110 - Banda de estiramento combinada C-C-O, resultante do acoplamento com as vibrações C-C adjacentes.
- 1090 - Banda de estiramento C-O, deslocada pelo acoplamento com o sistema aromático.
- 1085 - Banda de estiramento C-O, deslocada pelo acoplamento com o sistema aromático.
- 785 - Deformação angular C-H fora do plano, característico de sistema aromático 1,2,4 substituído.
- 745 - Deformação angular C-H fora do plano, característico de sistema aromático 1,2,4 substituído.
- 723 - Deformação angular C-H fora do plano, característico de sistema aromático monossustituído.
- 715 - Deformação angular C-H fora do plano, característico de sistema aromático monossustituído.
- 644 - Deformação angular C=C/C-C de aromático fora do plano, característico de sistema aromático substituído.

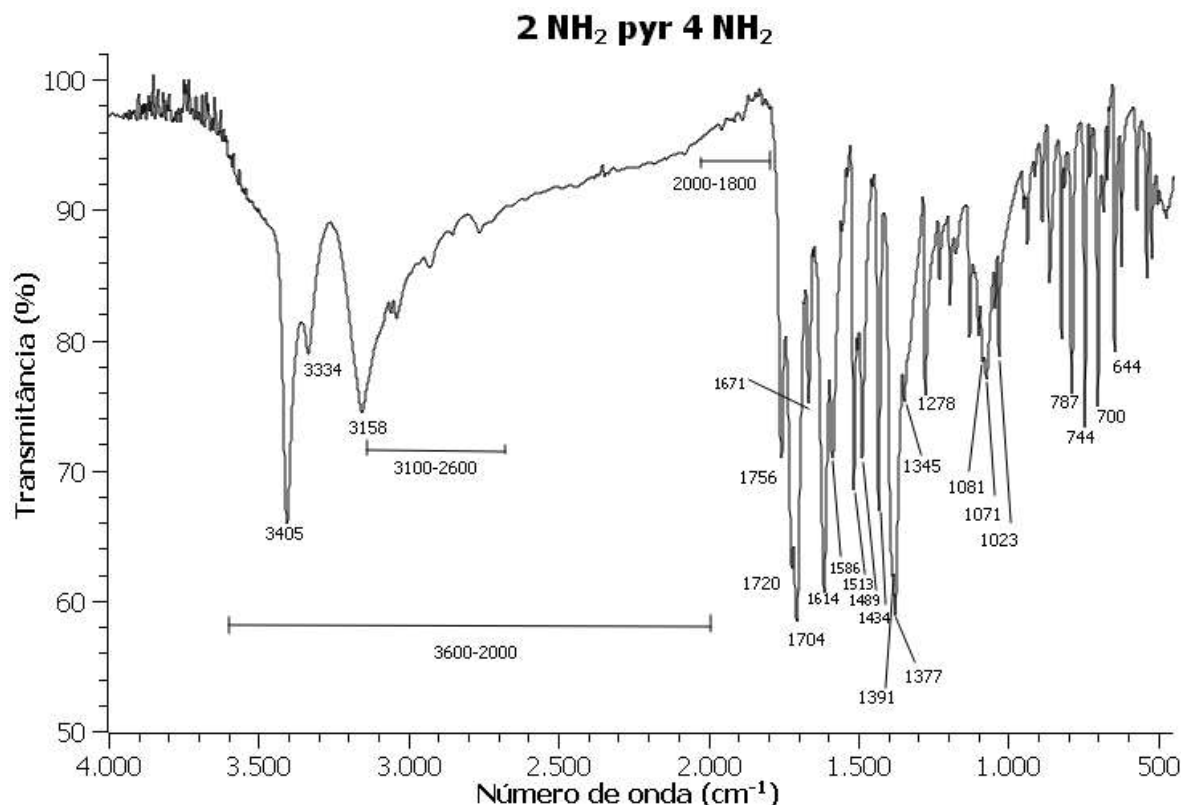


Figura 22: Espectro de Infravermelho referente ao produto final 4.

- 3600-2000 - Estiramento típico de grupamento -OH, proveniente de resíduos de água/metanol/Ácido acético.
- 3405 - Estiramento N-H de amina primária.
- 3334 - Estiramento N-H de amina primária.
- 3158 - Estiramento N-H de amina primária, fazendo lig. de H em estado sólido.
- 3100-2600 - Estiramento C-H de sistema aromático.
- 2000-1800 - Bandas de sobretons (overtone) de C-H aromático.
- 1756 - Banda de estiramento C=O de resíduo de Ácido acético, deslocada por conjugação com as carbonilas presentes no composto.
- 1720 - Estiramento C=O característico de cetona conjugada com sistema de elétrons π aromático.
- 1704 - Estiramento C=O característico de cetona conjugada com sistema de elétrons π aromático.
- 1614 - Banda do movimento de tesoura dos átomos de H da amina primária.
- 1586 - Estiramento fora do plano de C=C, característico de lig. dupla de carbonos conjugada em ciclos, deslocada pela ligação da amina no ciclo.
- 1513 - Banda de estiramento típico C-O, com característica de ligação simples, resultante da movimentação de elétrons π pela conjugação com sistema aromático, deslocada também por essa conjugação.
- 1489 - Banda de estiramento típico C-O de ácido carboxílico.

- 1434 - Estiramento C=C em anel aromático.
- 1391 - Estiramento típico C-C-O, com característica de ligação simples, resultante da movimentação de elétrons π pela conjugação com sistema aromático.
- 1377 - Estiramento típico C-C-O, com característica de ligação simples, resultante da movimentação de elétrons π pela conjugação com sistema aromático.
- 1345 - Banda de estiramento C-N aromática, da ligação da amina no ciclo.
- 1278 - Estiramento C-O característico de ligação C-OH de álcool primário, referente ao solvente metanol.
- 1081 - Banda de estiramento combinada C-C-O, resultante do acoplamento com as vibrações C-C adjacentes.
- 1071 - Banda de estiramento combinada C-C-O, resultante do acoplamento com as vibrações C-C adjacentes.
- 1023 - Banda de estiramento combinada C-O, característica de ácido carboxílico.
- 787 - Deformação angular C-H fora do plano, característico de sistema aromático 1,2,4 substituído.
- 744 - Deformação angular C-H fora do plano, característico de sistema aromático 1,2,4 substituído.
- 700 - Deformação angular C-H fora do plano, característico de sistema aromático monossustituído.
- 644 - Deformação angular C-H fora do plano, característico de sistema aromático monossustituído.

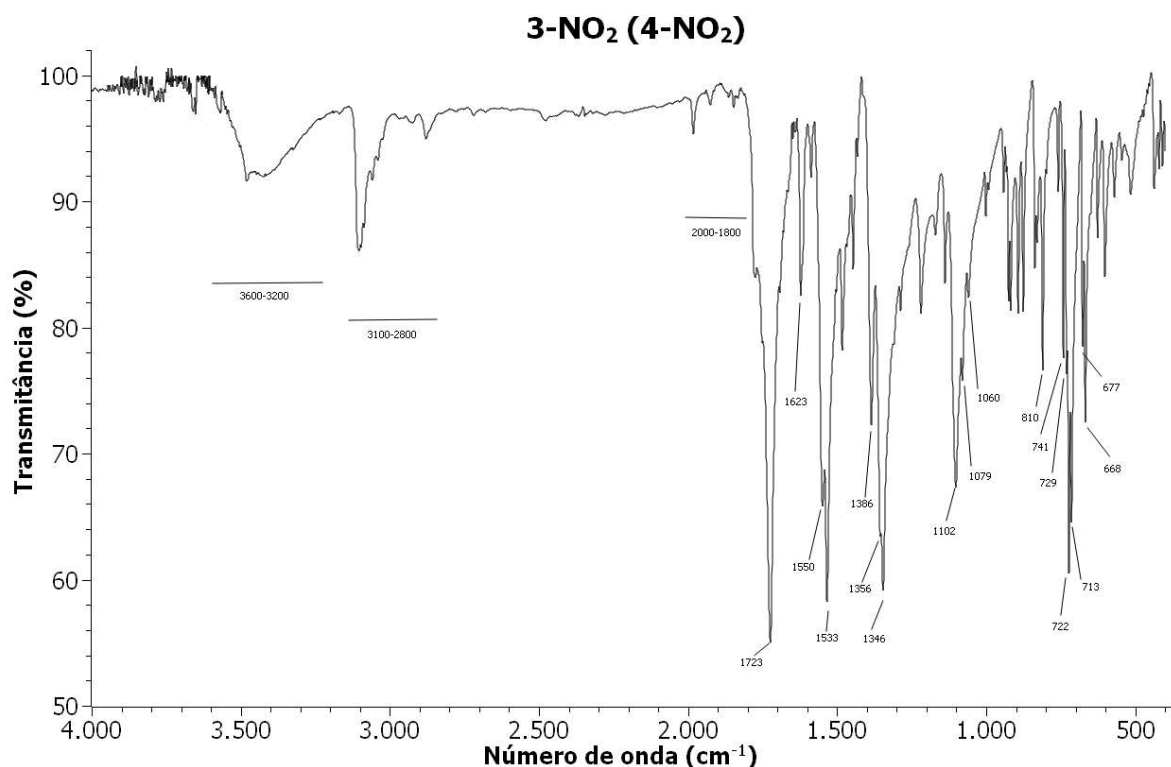


Figura 23: Espectro de Infravermelho referente ao intermediário 1 referente à primeira etapa da síntese proposta para os compostos 6 e 7.

- 3600-3200 - Estiramento típico de grupamento -OH, proveniente de resíduos de água/Ácido acético.
- 3100-2800 - Banda de estiramento característico de C-H sp².
- 2000-1800 - Bandas de sobretons (overtone) de C-H aromático.
- 1723 - Estiramento C=O duplo, referente às ligações duplas C=O conjugadas com o sistema de elétrons π aromático, com valor deslocado pela presença do NO₂.
- 1623 - Estiramento assimétrico de N=O característica de nitrocomposto, sobreposto do estiramento fora do plano de C=C, característico de lig. dupla de carbonos conjugada em ciclos, ambas as bandas deslocadas pela presença de 2 ligações duplas C=O próximas.
- 1550 - Estiramento assimétrico de N=O característica de nitrocomposto, com deslocamento pela conjugação com o sistema aromático.
- 1533 - Estiramento simétrico de N=O característica de nitrocomposto, sendo o sinal da banda deslocado pela conjugação com o sistema aromático e as 2 ligações duplas C=O próximas.
- 1386 - Banda de estiramento C-N aromática, da ligação do nitrocomposto no sistema aromático.
- 1356 - Banda de estiramento típico C-O, com característica de ligação simples, resultante da movimentação de elétrons π pela conjugação com sistema aromático, deslocada também por essa conjugação.
- 1346 - Banda de estiramento típico C-O, resultante da movimentação de elétrons π pela conjugação com sistema aromático, deslocada também por essa conjugação.

- 1102 - Banda de estiramento combinada C-C-O, resultante do acoplamento dos estiramentos C-O com os C-C adjacentes.
- 1079 - Banda de estiramento C-O, resultante da conjugação com o sistema aromático.
- 1060 - Banda de estiramento C-O, resultante da conjugação com o sistema aromático
- 810 - Deformação angular C-H fora do plano, característico de sistema aromático 1,2,4 substituído.
- 741 - Deformação angular C-H fora do plano, característico de sistema aromático 1,2,4 substituído.
- 729 - Deformação angular C-H fora do plano, característico de sistema aromático monossustituído.
- 722, 713 - Deformação angular C-H fora do plano, característico de sistema aromático monossustituído, separado em 2 sinais pela conjugação do grupo nitro no anel acoplado.
- 677 - Deformação angular C=C/C-C de aromático fora do plano, característico de sistema aromático que seja substituído.
- 668 - Deformação angular C=C/C-C de aromático fora do plano, característico de sistema aromático que seja substituído.

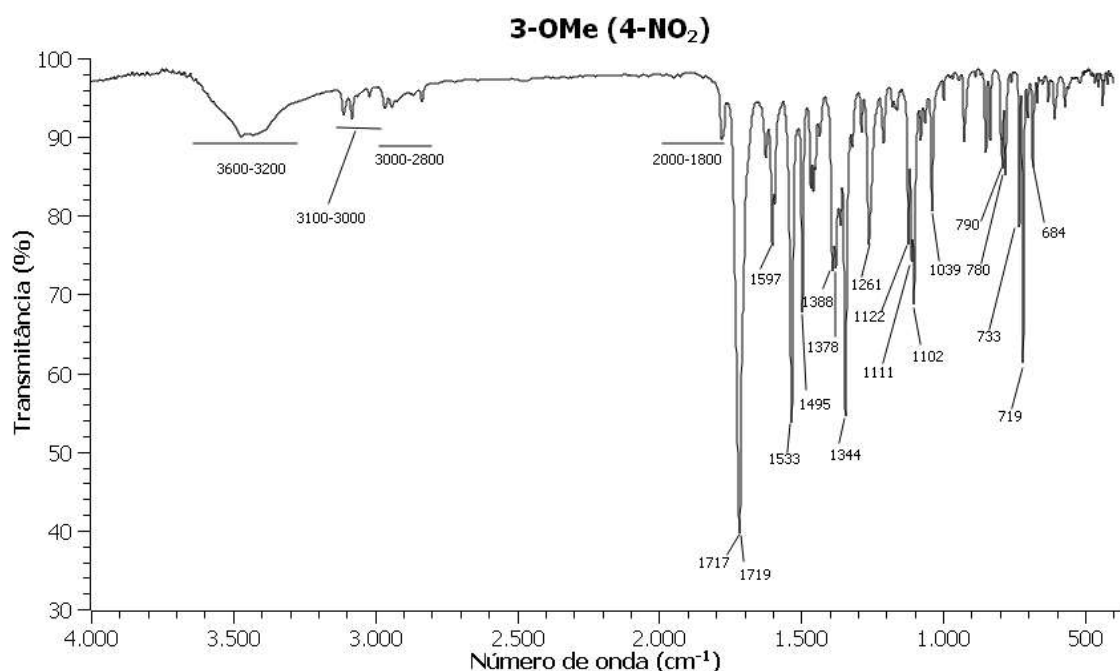


Figura 24: Espectro de Infravermelho referente ao intermediário 1, da primeira etapa da síntese proposta, para o composto 8.

- 3600-3200 - Estiramento típico de grupamento -OH, proveniente de resíduos de água/Ácido acético.
- 3100-3000 - Estiramento C-H de carbono sp³.
- 3000-2800 - Banda de estiramento característico de C-H sp².
- 2000-1800 - Bandas de sobretons (overtone) de C-H aromático.
- 1717 - Estiramento C=O, referente às ligações duplas C=O conjugadas com o sistema de elétrons π aromático, com valor deslocado pela presença do NO₂.
- 1719 - Estiramento C=O, referente às ligações duplas C=O conjugadas com o sistema de elétrons π aromático, com valor deslocado pela presença do NO₂.
- 1597 - Estiramento assimétrico de N=O característica de nitrcomposto, sobreposto do estiramento fora do plano de C=C, característico de lig. dupla de carbonos conjugada em ciclos, ambas as bandas deslocadas pela presença de 2 ligações duplas C=O próximas.
- 1533 - Estiramento simétrico de N=O característica de nitrcomposto, sendo o sinal da banda deslocado pela conjugação com o sistema aromático e as 2 ligações duplas C=O próximas.
- 1495 - Estiramento de C-O, característico de ligação simples.
- 1388 - Banda de estiramento típico C-C-O, deslocada pela movimentação de elétrons π por conjugação com sistema aromático, podendo ainda estar sobreposta de bandas secundárias do estiramento C=C de anel aromático, resultante da movimentação de elétrons π no sistema.
- 1378 - Banda de estiramento típico C-C-O, deslocada pela movimentação de elétrons π por conjugação com sistema aromático, podendo ainda estar sobreposta de bandas secundárias do estiramento C=C de anel aromático, resultante da movimentação de elétrons π no sistema.
- 1344 - Banda de estiramento secundárias do estiramento C=C de anel aromático, resultante da movimentação de elétrons π pela conjugação com sistema aromático.

- 1261 - Banda de estiramento típico de ligação simples C-O, deslocada pela ligação com sistema aromático.
- 1122 - Banda de estiramento típico C-O de cetona conjugada, deslocada pela movimentação de elétrons π por conjugação com sistema aromático.
- 1111 - Banda de estiramento típico C-O de cetona conjugada, deslocada pela movimentação de elétrons π por conjugação com sistema aromático.
- 1102 - Estiramento de C-O, característico de ligação simples, referente ao grupo -OMe.
- 1039 - Estiramento de C-O, característico de ácido carboxílico, referente a possível resíduo de ácido acético.
- 790 - Deformação angular C-H fora do plano, característico de sistema aromático 1,2,4 substituído.
- 780 - Deformação angular C-H fora do plano, característico de sistema aromático 1,2,4 substituído.
- 733 - Deformação angular C-H fora do plano, característico de sistema aromático monossustituído.
- 719 - Deformação angular C-H fora do plano, característico de sistema aromático monossustituído.
- 684 - Deformação angular C=C/C-C de aromático fora do plano, característico de sistema aromático que seja substituído.

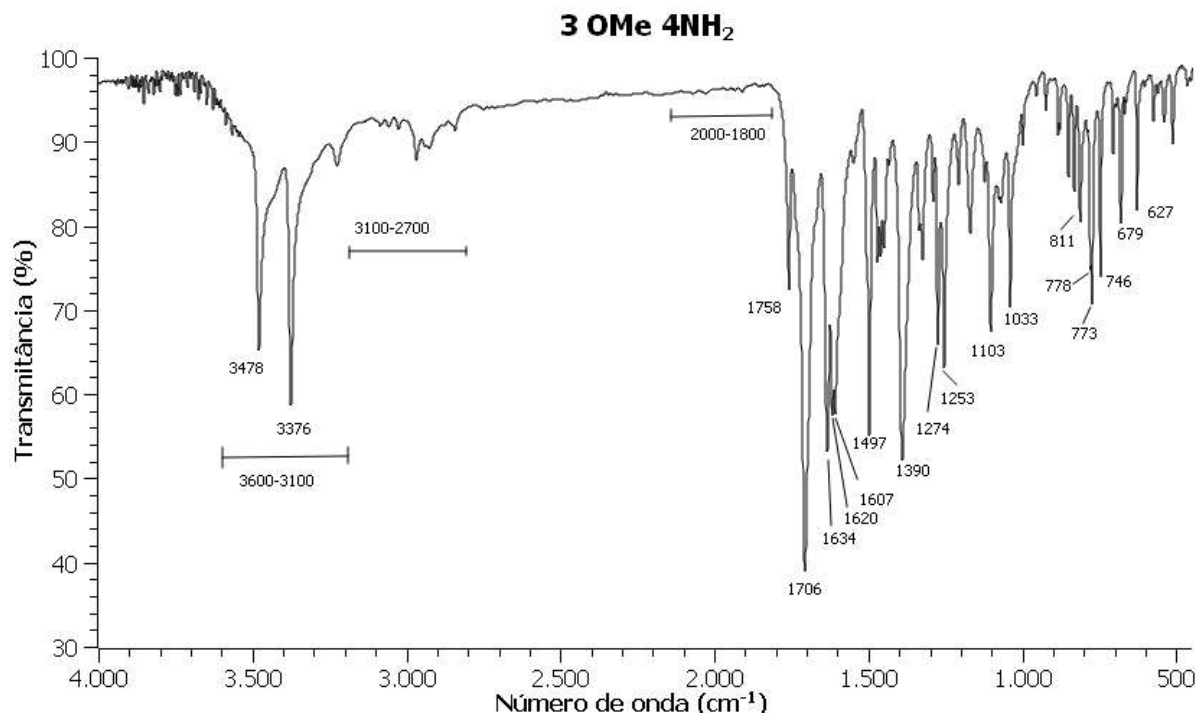


Figura 25: Espectro de Infravermelho referente ao intermediário 2, da segunda etapa da síntese proposta para o composto 8.

- 3600-3100 - Estiramento típico de grupamento -OH, proveniente de resíduos de água/Ácido acético.
- 3478 - Estiramento N-H de amina primária, em banda dupla característica.
- 3376 - Estiramento N-H de amina primária, em banda dupla característica.
- 3100-2700 – Banda de estiramento característico de C-H sp² e sp³ sobrepostos, de difícil visualização pelo encobrimento do sinal pela banda de O-H.
- 2000-1800 - Bandas de sobretons (overtone) de C-H aromático.
- 1758 - Banda de estiramento C=O de resíduo de Ácido acético, deslocada por conjugação com as carbonilas presentes no composto.
- 1706 - Estiramento C=O, referente às ligações duplas C=O conjugadas com o sistema de elétrons π aromático.
- 1634 - Estiramento assimétrico de N=O, indicando possível presença de nitrocomposto, reagente que não foi reduzido.
- 1620 - Banda referente ao movimento de tesoura dos átomos de H da amina primária.
- 1607 - Banda referente ao movimento de tesoura dos átomos de H da amina primária.
- 1497 - Estiramento de C-O, característico da ligação simples entre carbono e oxigênio.
- 1390 – Duas bandas de estiramento típico C-C-O, sobrepostas, deslocadas pela movimentação de elétrons π por conjugação com sistema aromático, podendo ainda estarem sobrepostas de bandas secundárias do estiramento C=C de anel aromático, resultante da movimentação de elétrons π no sistema.
- 1274 - Banda de estiramento típico C-O, deslocada pela ligação com sistema aromático.
- 1253 - Banda de estiramento típico C-O, deslocada pela ligação com sistema aromático.

- 1103 - Banda de estiramento típico C-O de cetona conjugada, deslocada pela movimentação de elétrons π por conjugação com sistema aromático.
- 1033 - Banda de estiramento típico C-O de ácido carboxílico, de possível resíduo de ácido acético.
- 811 – Estiramento C=C aromático, sobreposto às bandas de estiramento secundárias C-H de aromático substituído.
- 778 - Deformação angular C-H fora do plano, característico de sistema aromático 1,2,4 substituído.
- 773 - Deformação angular C-H fora do plano, característico de sistema aromático 1,2,4 substituído.
- 746 - Deformação angular C-H fora do plano, característico de sistema aromático monossustituído.
- 679 - Deformação angular C-H fora do plano, característico de sistema aromático monossustituído.
- 627 – Deformação angular C=C/C-C de aromático fora do plano, característico de sistema aromático que seja substituído.

APÊNDICE B – RELAÇÃO DE INTERAÇÕES DOS COMPLEXOS SUBSTÂNCIA-MACROMOLÉCULA

1-CF₃-meta

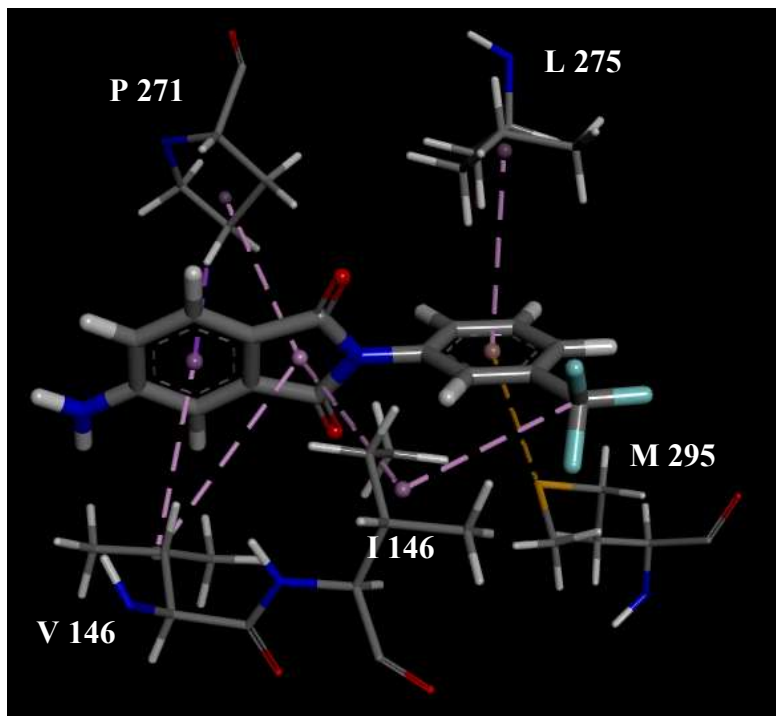


Figura 26: ligante 1-CF₃-meta, na sua melhor pose de interação;

Como observa-se na figura 1, que mostra o melhor modo de ligação do ligante 1-CF₃-meta, a região ftalimídica tem três interações significativas, sendo 2 do tipo hidrofóbica π -alquil e 1 do tipo π -sigma, sendo as duas primeiras com as cadeias laterais dos resíduos V146 (4,15 Å) e P271 (4,24 Å), e a terceira, a π -sigma, com a cadeia lateral do resíduo P271 (2,59 Å). Além dessas, também se observa 2 interações com o anel benzênico: uma hidrofóbica do tipo π -alquil, com a cadeia lateral do resíduo L275 (4,27 Å) e uma do tipo π -enxofre, com o átomo de enxofre da cadeia lateral de M295 (4,08 Å); Ao passo que o carbono do grupo trifluorometil realiza uma interação hidrofóbica do tipo π -alquil com resíduo I147 (4,62 Å).

2A-CF₃-meta

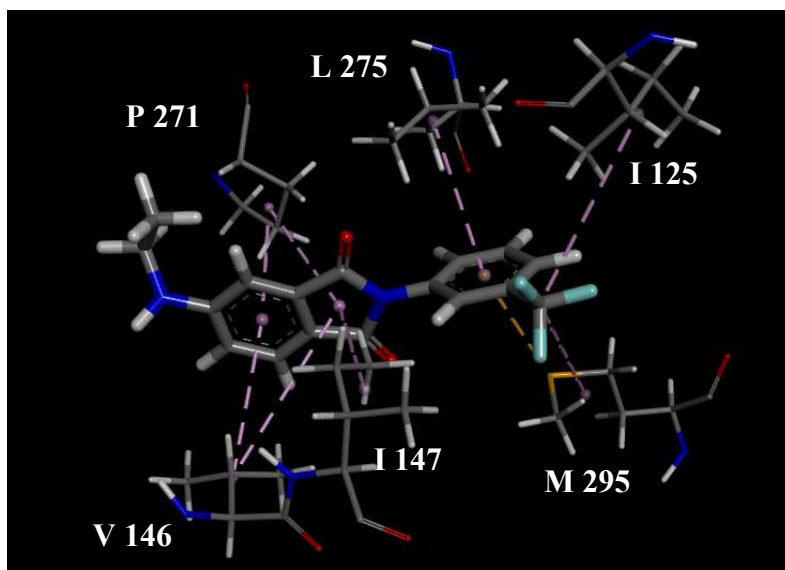


Figura 27: ligante 2A-CF₃-meta, na sua melhor pose de interação

Como observa-se na figura 2, que mostra o modo de ligação melhor classificado para o ligante 2A-CF₃-meta, a região ftalimídica tem três interações significativas, todas do tipo hidrofóbica π -alquil, interagindo com as cadeias laterais dos resíduos V146 (4,39 Å) e P271 (3,97 Å e 4,47 Å); Além dessas, também se observa 2 interações com o anel benzênico: uma hidrofóbica do tipo π -alquil, com a cadeia lateral do resíduos L275 (4,34 Å) e uma do tipo π -enxofre, com o átomo de enxofre da cadeia lateral de M295 (3,88 Å); As interações com o carbono do grupo trifluorometil se estendem além de 5,00 Å, não sendo consideradas significativas.

2B-CF₃-meta

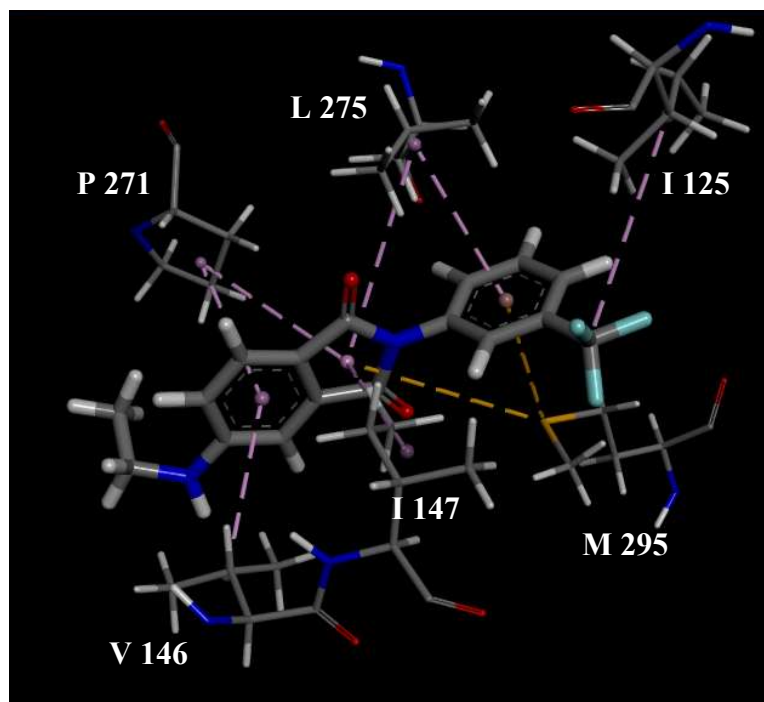


Figura 28:ligante 2B-CF₃-meta, na sua melhor pose de interação

Como observa-se na figura 3, que mostra o modo de ligação melhor classificado do ligante 2B-CF₃-meta, a região ftalimídica tem três interações significativas, todas do tipo hidrofóbica π -alquil, com as cadeias laterais dos resíduos V146 (4,40 Å) e P271 (4,16 Å e 4,78 Å). Além dessas, também se observa 2 interações com o anel benzênico: uma hidrofóbica do tipo π -alquil, com a cadeia lateral do resíduo L275 (4,25 Å) e uma do tipo π -enxofre, com o átomo de enxofre da cadeia lateral de M295 (4,08 Å); Para o carbono do grupo trifluorometil, a interação observada excede o limite de 5,00 Å e não é considerada significativa.

3-CF₃-meta

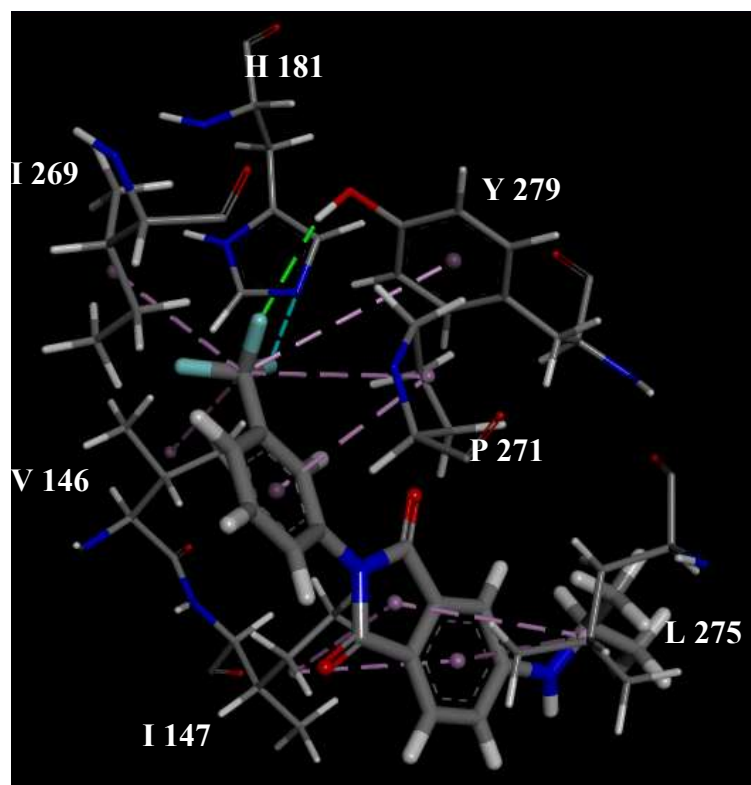


Figura 29: ligante 3-CF₃-meta, na sua melhor pose de interação

Como observa-se na figura 4, que mostra o modo de ligação melhor classificado do ligante 3-CF₃-meta, a região ftalimídica tem quatro interações significativas, todas do tipo hidrofóbica π -alquil, com as cadeias laterais dos resíduos L275 (3,83 Å e 4,02 Å) e I147 (4,13 Å e 4,08 Å). Além dessas, também se observa uma interação com o anel benzênico, hidrofóbica do tipo π -alquil, com átomos da cadeia lateral do resíduo de P271 (4,73 Å); Para o carbono do grupo trifluorometil, observam-se 3 interações do tipo hidrofóbica π -alquil, com os resíduos de P271 (4,46 Å), V146 (4,30 Å) e I269 (4,49 Å); Com 2 dos átomos de flúor do grupo trifluorometil observam-se 2 ligações de H, uma para cada átomo, por meio da interação com as cadeias laterais dos resíduos de Y279 (2,56 Å – doador de H) e H181 (3,44 Å – doador de H).

4-CF₃-meta

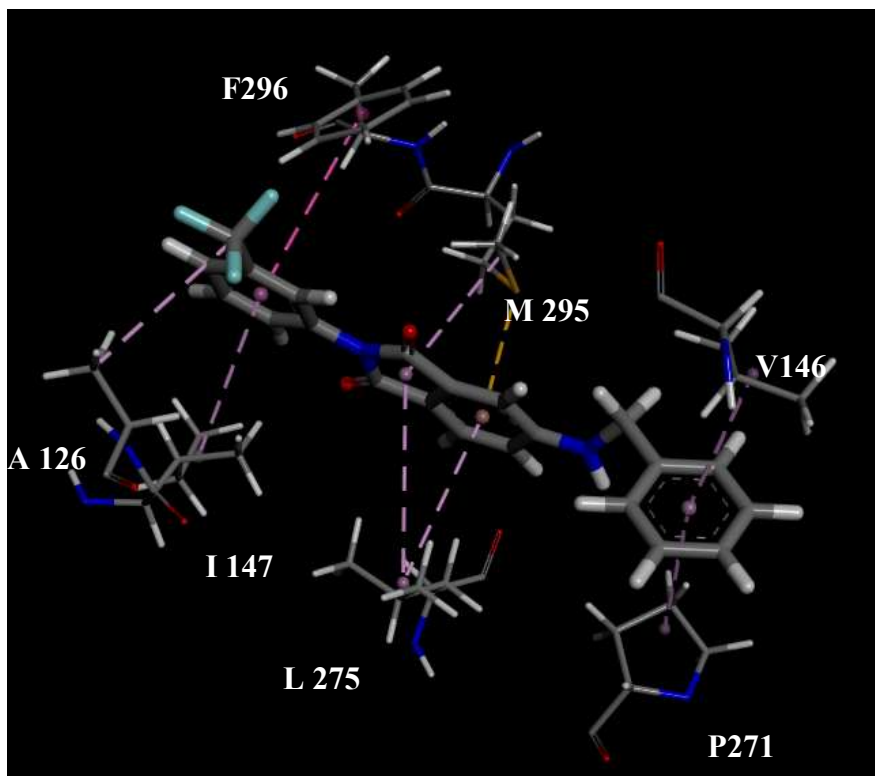


Figura 30:ligante 4-CF₃-meta, na sua melhor pose de interação

Como observa-se na figura 5, que mostra o modo de ligação melhor classificado do ligante 4-CF₃-meta, a região ftalimídica tem três interações significativas, sendo duas do tipo hidrofóbica π -alquil, com as cadeias laterais dos resíduos L275 (4,50 Å) e M295 (4,75 Å) e uma do tipo hidrofóbica π -enxofre, com o átomo de enxofre da cadeia lateral do resíduo de M295 (3,75). Além dessas, também se observam duas interações com o anel benzênico em R2, do tipo hidrofóbica π -alquil, com as cadeias laterais dos resíduos de P271 (4,18 Å) e V146 (4,07 Å); Para o anel onde se liga o grupo trifluorometil, observa-se 1 uma interação, do tipo hidrofóbica π -alquil, com o resíduo de I125 (4,53 Å); Com o átomo de carbono do grupo trifluorometil observa-se uma interação do tipo hidrofóbica π -alquil, por meio da interação com a cadeia lateral do resíduo de A126 (4,45 Å).

1-CF₃-orto

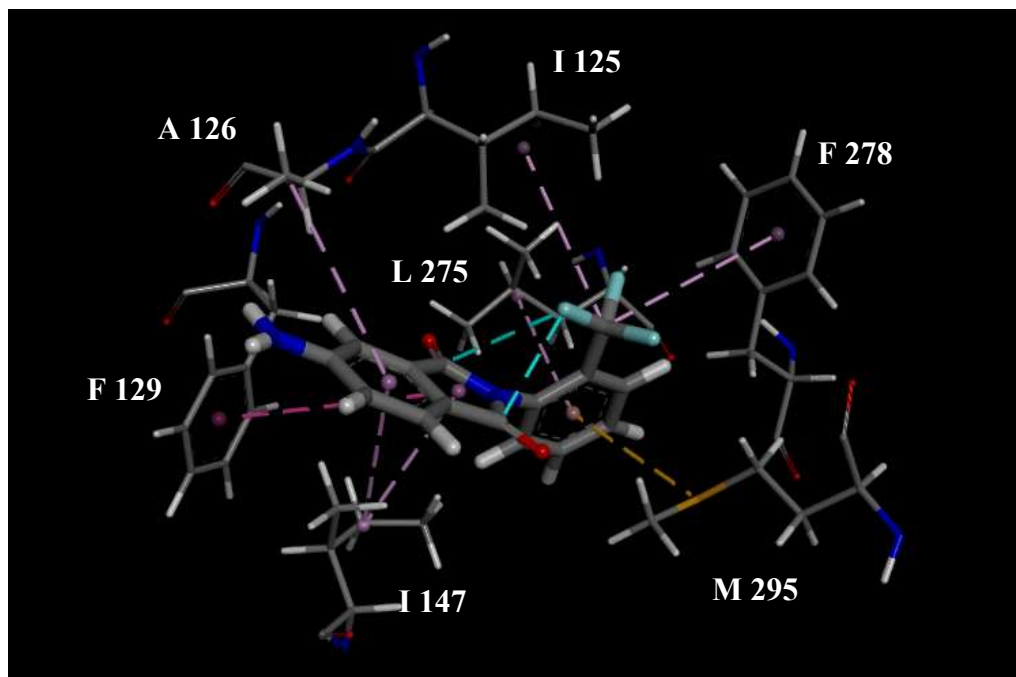


Figura 31: ligante 1-CF₃-orto, na sua melhor pose de interação

Como observa-se na figura 6, que mostra o modo de ligação melhor classificado do ligante 1-CF₃-orto, a região ftalimídica tem duas interações significativas, ambas do tipo hidrofóbica π -alquil, com a cadeia lateral do resíduo I147 (4,54 Å e 4,11 Å). Além dessas, também se observam duas interações com o anel benzênico, uma do tipo hidrofóbica π -alquil e uma do tipo hidrofóbica π -enxofre, respectivamente com a cadeia lateral do resíduo de L275 (4,20 Å) e como átomo de enxofre do resíduo M295 (4,03 Å); Com o átomo de carbono do grupo trifluorometil, observam-se duas interações do tipo hidrofóbica π -alquil, com as cadeias laterais dos resíduos de I125 (4,54 Å) e F278 (4,94 Å).

2-CF₃-orto

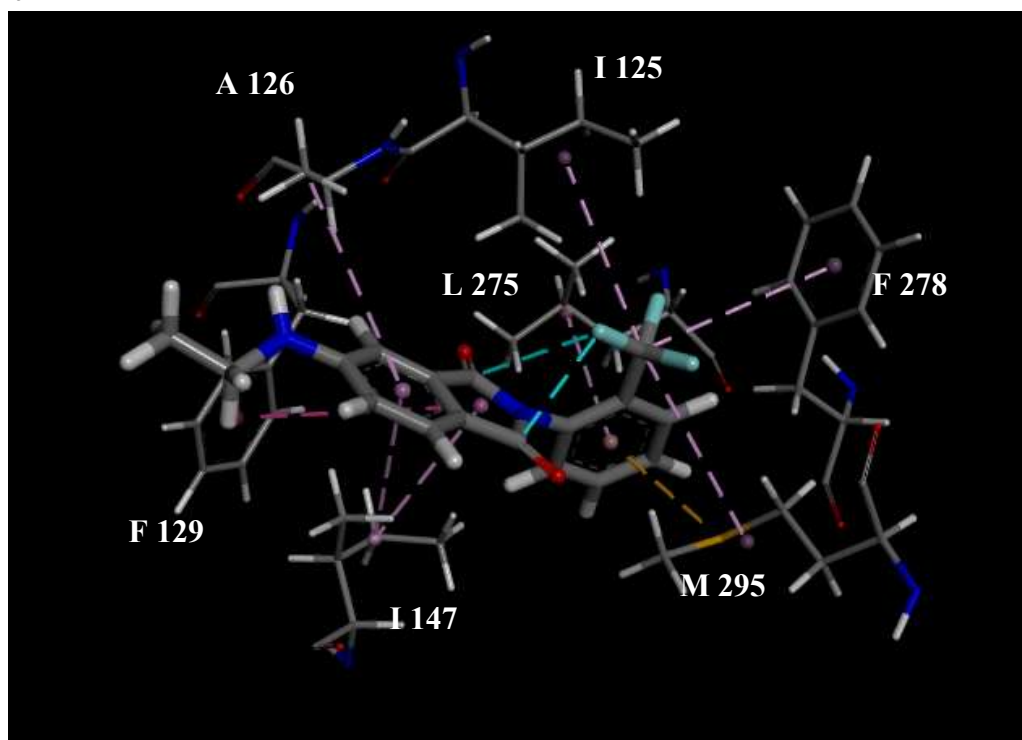


Figura 32:ligante 2-CF₃-orto, na sua melhor pose de interação

Como observa-se na figura 7, que mostra o modo de ligação melhor classificado do ligante 2-CF₃-orto, a região ftalimídica tem duas interações significativas, ambas do tipo hidrofóbica π -alquil, com a cadeia lateral do resíduo I147 (4,53 Å e 4,17 Å). Além dessas, também se observam duas interações com o anel benzênico, uma do tipo hidrofóbica π -alquil e uma do tipo hidrofóbica π -enxofre, respectivamente com a cadeia lateral do resíduo de L275 (4,27 Å) e como átomo de enxofre do resíduo M295 (3,93 Å); Com o átomo de carbono do grupo trifluorometil, observam-se três interações do tipo hidrofóbica π -alquil, com as cadeias laterais dos resíduos de I125 (4,59 Å), F278 (4,83 Å) e M295 (4,89 Å).

3-CF₃-orto

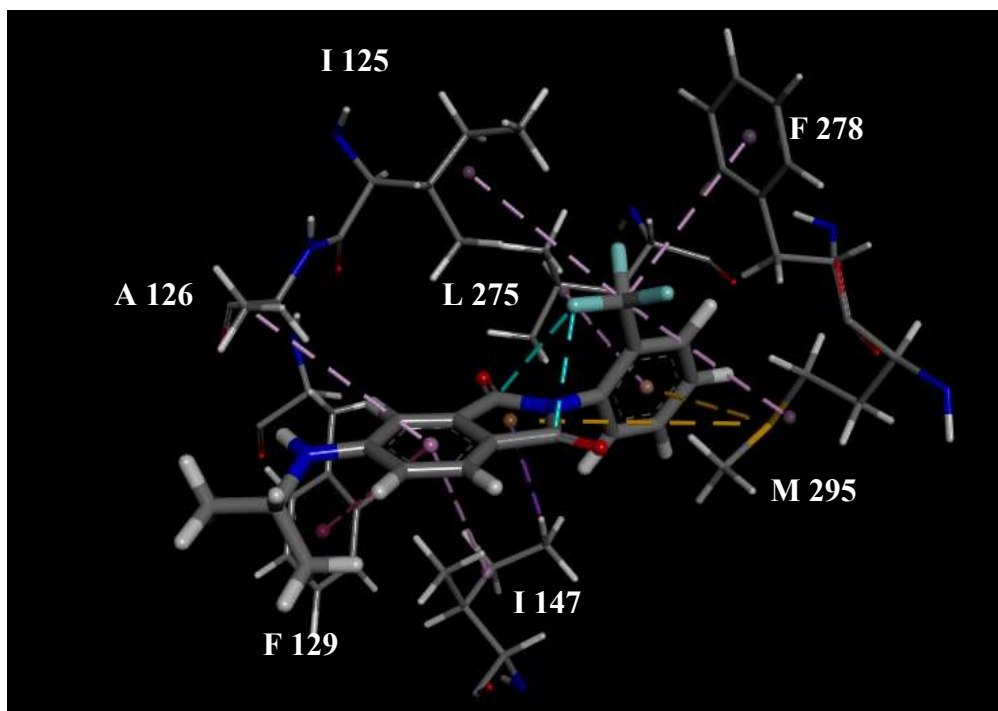


Figura 33: ligante 3-CF₃-orto, na sua melhor pose de interação

Como observa-se na figura 8, que mostra o modo de ligação melhor classificado do ligante 3-CF₃-orto, a região ftalimídica tem duas interações significativas, uma do tipo hidrofóbica π -alquil e uma do tipo hidrofóbica π -sigma, sendo ambas com a cadeia lateral do resíduo I147 (respectivamente, 4,50 Å e 2,94 Å). Além dessas, também se observam duas interações com o anel benzênico, uma do tipo hidrofóbica π -alquil e uma do tipo hidrofóbica π -enxofre, respectivamente com a cadeia lateral do resíduo de L275 (4,28 Å) e como átomo de enxofre do resíduo M295 (3,93 Å); Com o átomo de carbono do grupo trifluorometil, observam-se três interações do tipo hidrofóbica π -alquil, com as cadeias laterais dos resíduos de I125 (4,66 Å), F278 (4,83 Å) e M295 (4,84 Å).

4-CF₃-orto

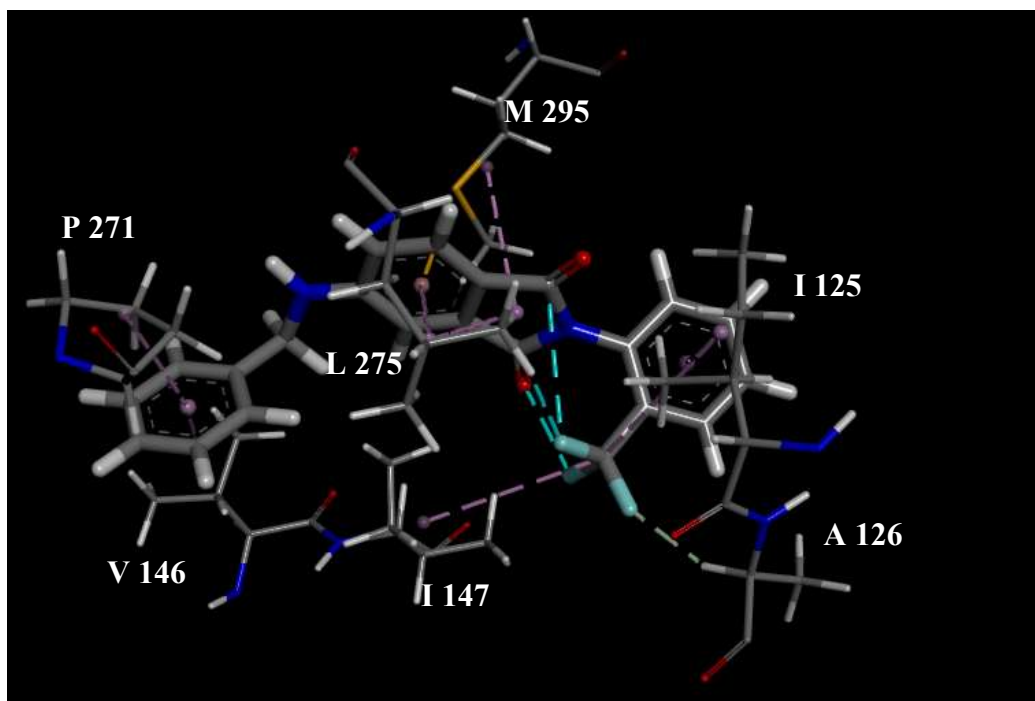


Figura 34: ligante 4-CF₃-orto, na sua melhor pose de interação

Como observa-se na figura 9, que mostra o modo de ligação melhor classificado do ligante 4-CF₃-orto, a região ftalimídica tem três interações significativas, duas do tipo hidrofóbica π -alquil, com as cadeias laterais dos resíduos L275 (4,82 Å) e M295 (4,60 Å) e uma do tipo hidrofóbica π -enxofre, com o átomo de enxofre da cadeia lateral do resíduo M295 (3,51 Å). Também se observa para o anel benzênico em R2, duas interações do tipo hidrofóbica π -alquil, com as cadeias laterais dos resíduos de P271 (4,13 Å) e V146 (4,12 Å). Para o anel substituído em R1, há uma interação do tipo hidrofóbica π -alquil com a cadeia lateral do resíduo de I125 (4,55 Å). Com o átomo de carbono do grupo trifluorometil, observa-se uma interação do tipo π -alquil, com a cadeia lateral do resíduo I147 (4,77 Å), e para um dos átomos de flúor ligado a este carbono se observa uma ligação de H do tipo não-clássica, entre esse flúor e o H ligado ao carbono do resíduo de A126 (2,26 Å).

1-CF₃-para

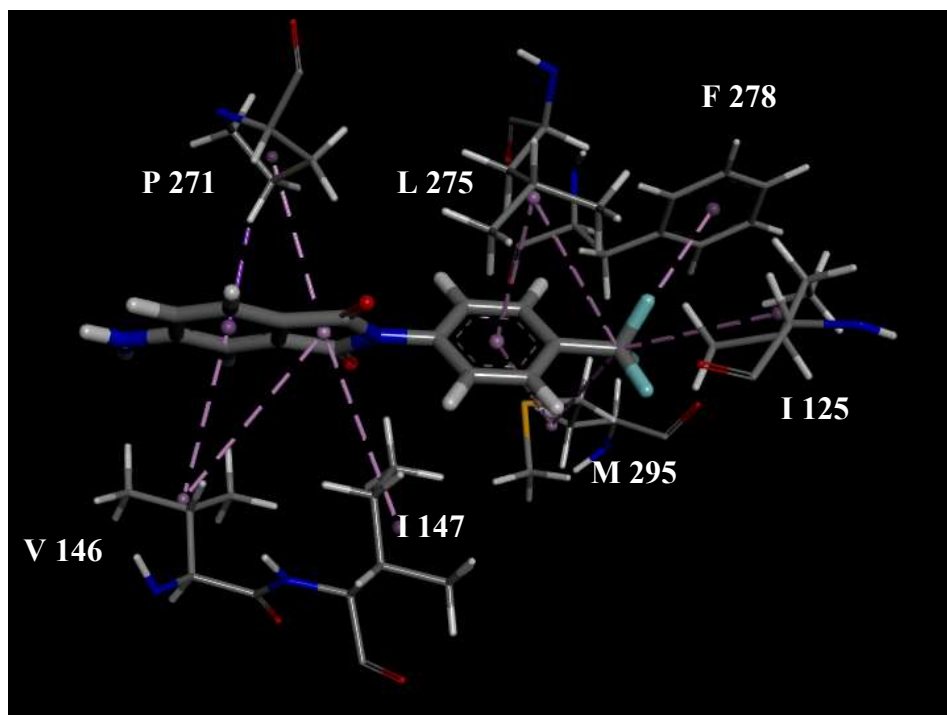


Figura 35: ligante 1-CF₃-para, na sua melhor pose de interação

Como observa-se na figura 10, que mostra o modo de ligação melhor classificado do ligante 1-CF₃-para, a região ftalimídica tem duas interações significativas, duas do tipo hidrofóbica π -alquil e uma do tipo hidrofóbica π -sigma, sendo as π -alquil com as cadeias laterais dos resíduos V146 (4,16 Å) e P271 (4,23 Å) e a interação π -sigma com a cadeia lateral também do resíduo P271 (2,57 Å). Para o anel aromático em R1, há uma interação do tipo hidrofóbica π -alquil com a cadeia lateral do resíduo de L275 (4,24 Å); Com o átomo de carbono do grupo trifluorometil, observam-se quatro interações do tipo hidrofóbica π -alquil, com as cadeias laterais dos resíduos de I125 (4,84 Å), F278 (4,92 Å), M295 (4,76 Å) e L275 (4,97 Å).

2A-CF₃-para

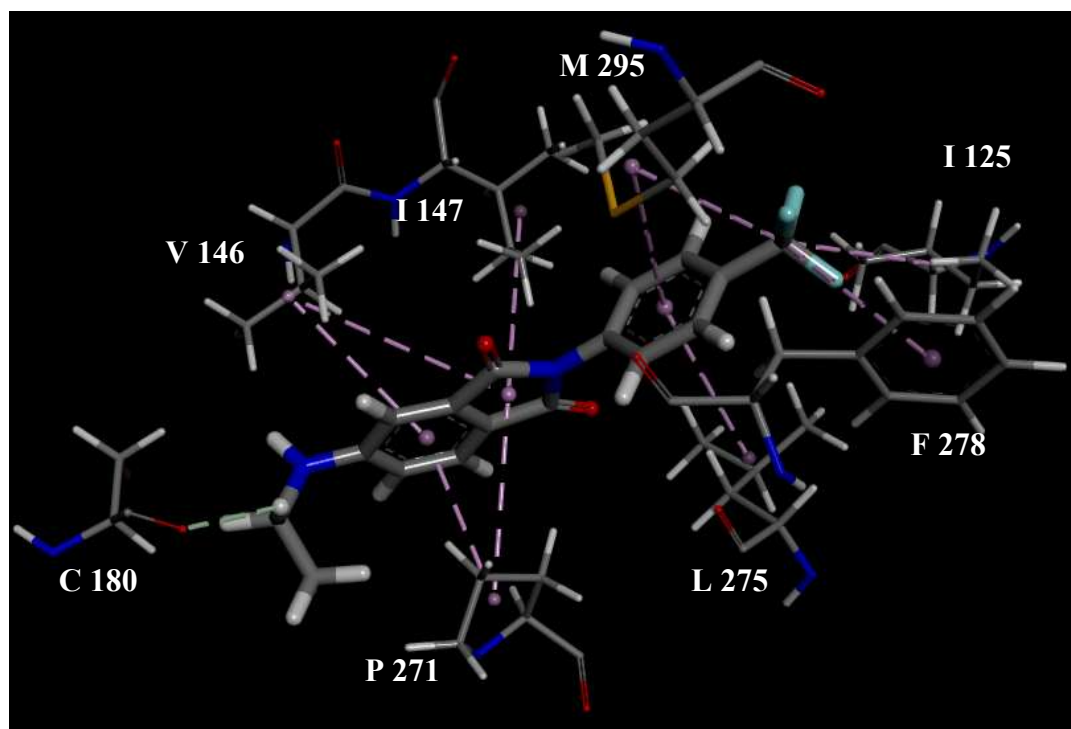


Figura 36: ligante 2A-CF₃-para, na sua melhor pose de interação

Como observa-se na figura 11, que mostra o modo de ligação melhor classificado do ligante 2A-CF₃-para, a região ftalimídica tem três interações significativas, todas do tipo hidrofóbica π -alquil, com as cadeias laterais dos resíduos V146 (4,42Å) e P271 (4,44 Å e 3,96 Å). Para o anel aromático em R1, há duas interações do tipo hidrofóbica π -alquil, com as cadeias laterais dos resíduos de L275 (4,31 Å) e M295 (4,91 Å); Com o átomo de carbono do grupo trifluorometil, observam-se três interações do tipo hidrofóbica π -alquil, com as cadeias laterais dos resíduos de I125 (4,64 Å), F278 (4,81 Å) e M295 (4,76 Å). Observa-se também uma interação com o H do grupo R2, correspondente, nesse caso, ao H do CH₂ do Et, sendo essa interação do tipo ligação de H não-clássica, ocorrendo com a carbonila do resíduo C180.

2B-CF₃-para

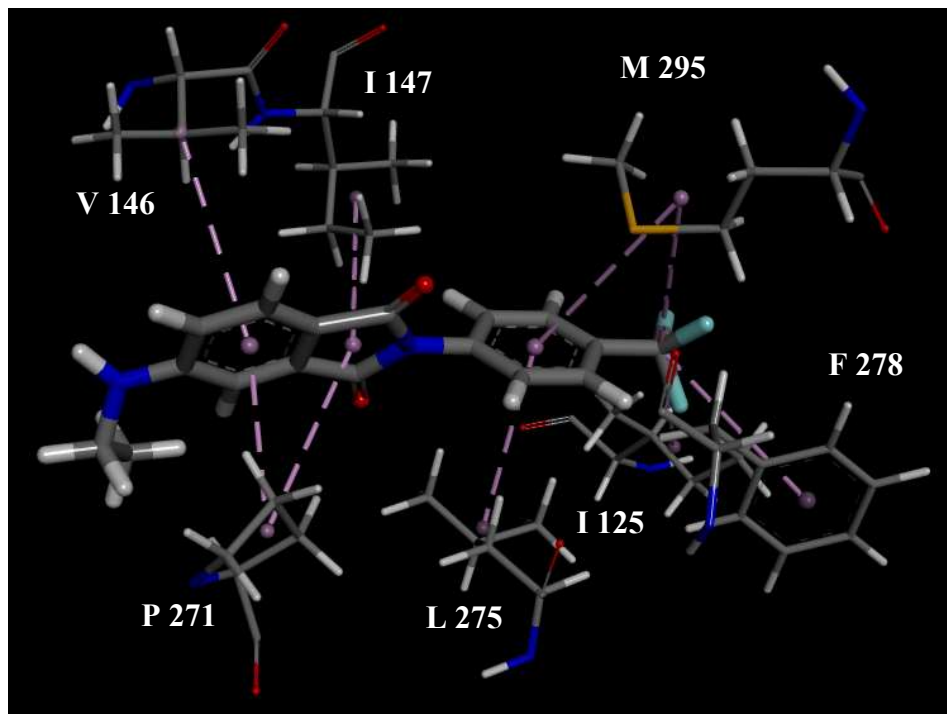


Figura 37: ligante 2B-CF₃-para, na sua melhor pose de interação

Como observa-se na figura 12, que mostra o modo de ligação melhor classificado do ligante 2B-CF₃-para, a região ftalimídica tem três interações significativas, todas do tipo hidrofóbica π -alquil, com as cadeias laterais dos resíduos V146 (4,49 Å) e P271 (4,49 Å e 3,88 Å). Para o anel aromático em R1, há duas interações do tipo hidrofóbica π -alquil, com as cadeias laterais dos resíduos de L275 (4,31 Å) e M295 (4,91 Å); Com o átomo de carbono do grupo trifluorometil, observam-se três interações do tipo hidrofóbica π -alquil, com as cadeias laterais dos resíduos de I125 (4,59 Å), F278 (4,76 Å) e M295 (4,79 Å).

3-CF₃-para

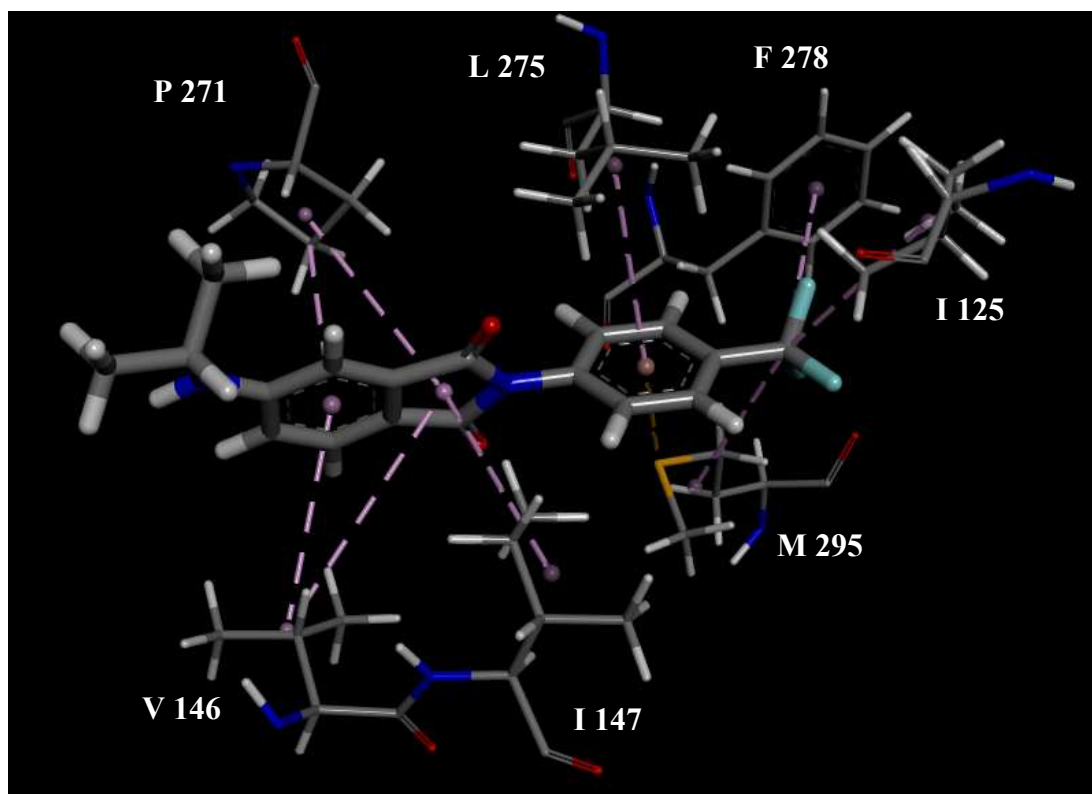


Figura 38: ligante 3-CF₃-para, na sua melhor pose de interação

Como observa-se na figura 13, que mostra o modo de ligação melhor classificado do ligante 3-CF₃-para, a região ftalimídica tem três interações significativas, todas do tipo hidrofóbica π -alquil, com as cadeias laterais dos resíduos V146 (4,40Å) e P271 (4,54 Å e 3,96 Å). Para o anel aromático em R1, há duas interações, uma do tipo hidrofóbica π -alquil e uma do tipo hidrofóbica π -enxofre, com, respectivamente, a cadeia lateral do resíduo de L275 (4,33 Å) e com o átomo de enxofre da cadeia lateral de M295 (3,99 Å); Com o átomo de carbono do grupo trifluorometil, observam-se três interações do tipo hidrofóbica π -alquil, com as cadeias laterais dos resíduos de I125 (4,60 Å), F278 (4,74 Å) e M295 (4,78 Å).

4-CF₃-para

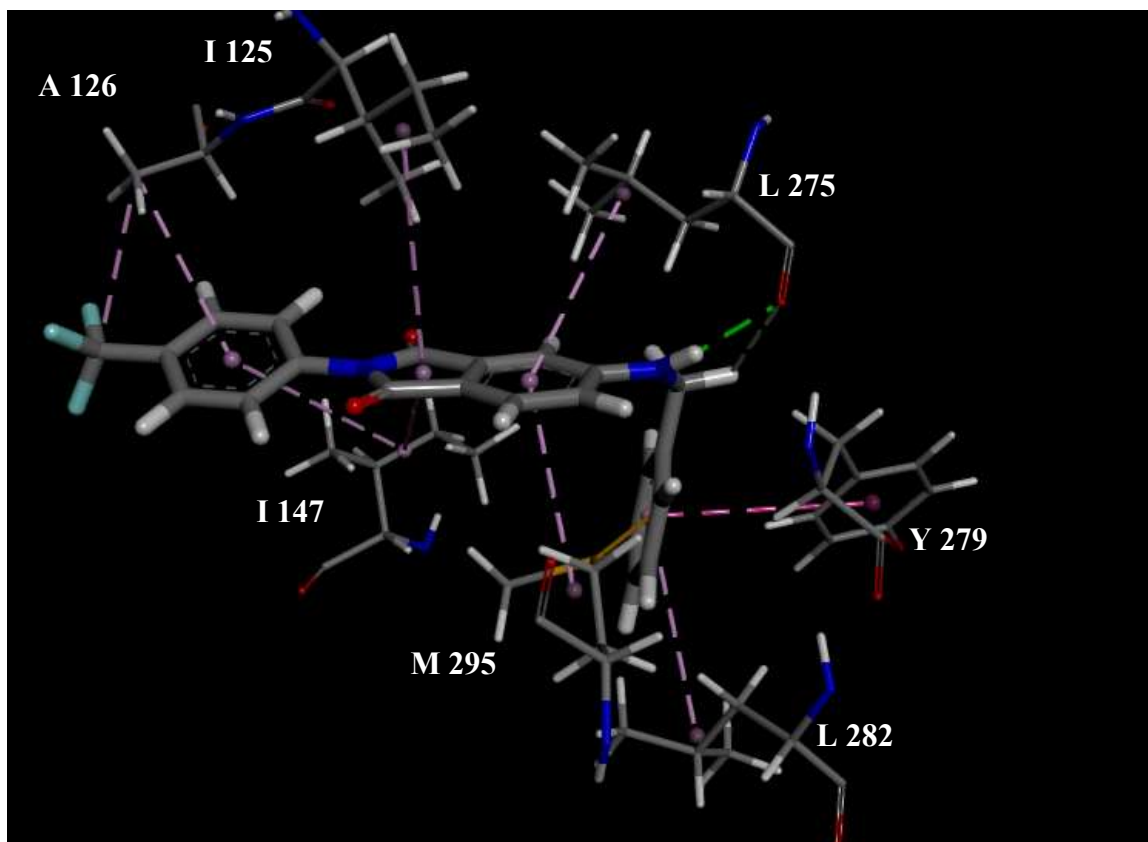


Figura 39: ligante 4-CF₃-para, na sua melhor pose de interação

Como observa-se na figura 14, que mostra o modo de ligação melhor classificado do ligante 4-CF₃-para, a região ftalimídica tem três interações significativas, do tipo hidrofóbica π -alquil, com as cadeias laterais dos resíduos M295 (4,77 Å), L275 (4,61 Å) e I147 (4,77Å). Para o anel aromático em R2, há duas interações, uma do tipo empilhamento T e uma do tipo hidrofóbica π -enxofre, com, respectivamente, o anel aromático da cadeia lateral do resíduo de Y279 (4,88 Å) e com o átomo de enxofre da cadeia lateral de M295 (4,50 Å); Com o anel aromático substituído, em R1, há uma interação do tipo hidrofóbica π -alquil, com a cadeia lateral do resíduo A126 (4,22 Å). Já para o átomo de carbono do grupo trifluorometil, há uma interação do tipo hidrofóbica π -alquil, com a cadeia lateral também do resíduo A126 (3,92 Å).

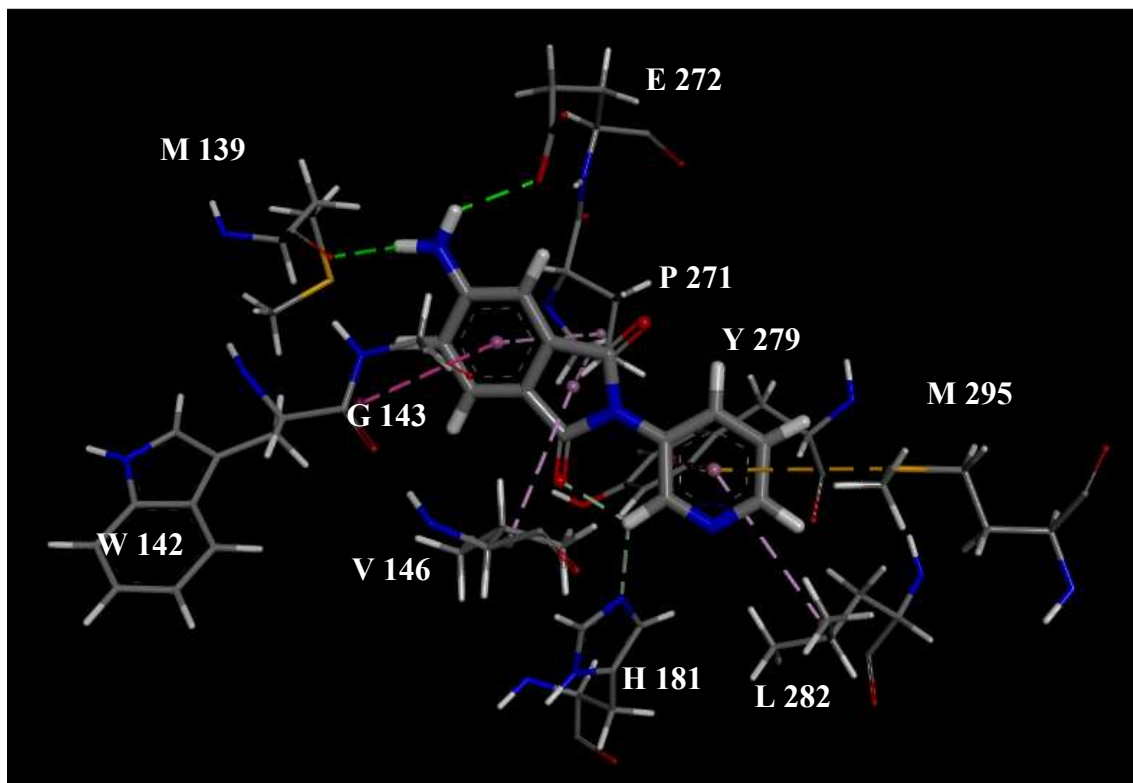


Figura 40: ligante 1-N-meta, na sua melhor pose de interação

Como observa-se na figura 15, que mostra o modo de ligação melhor classificado do ligante 1-N-meta, a região ftalimídica tem quatro interações significativas, sendo 3 delas do tipo hidrofóbica π -alquil, com as cadeias laterais dos resíduos V146 (4,68 Å) e P271 (4,24 Å e 3,91 Å) e uma do tipo empilhamento π -amida, com a amida formada entre os resíduos de W142 e G143 (4,56 Å). Para os hidrogênios ligados na amida lateral, na qual 1 deles corresponde ao R1, há duas interações do tipo ligação de H convencional, uma para cada H, com o átomo de O da cadeia lateral do resíduo E272 (2,32 Å) e O da cadeia lateral do resíduo M139 (2,32 Å). Para o anel aromático piridínico, há 3 interações: uma do tipo hidrofóbica π -enxofre, com o átomo de enxofre da cadeia lateral de M295 (3,99 Å); uma do tipo hidrofóbica π -alquil, com a cadeia lateral do resíduo de L282 (4,68 Å); e uma do tipo empilhamento T com o anel aromático da cadeia lateral do resíduo de Y279 (4,88 Å).

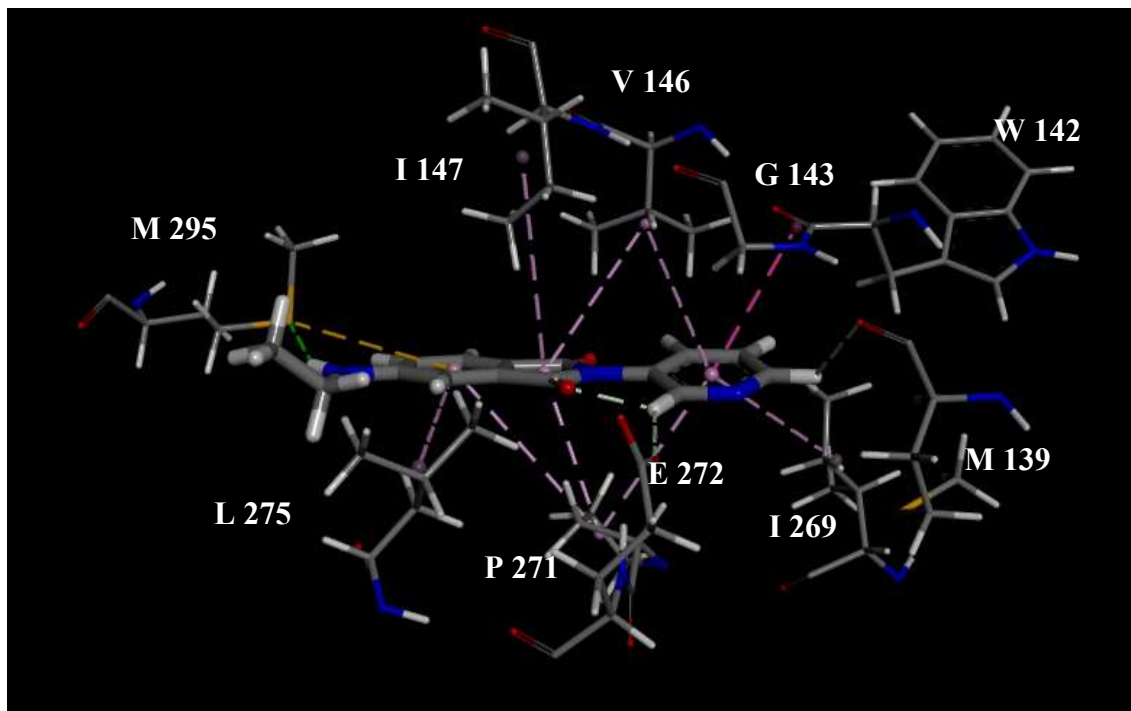


Figura 41: ligante 2-N-meta, na sua melhor pose de interação

Como observa-se na figura 16, que mostra o modo de ligação melhor classificado do ligante 2-N-meta, a região ftalimídica tem duas interações significativas, do tipo hidrofóbica π -alquil, com a cadeia lateral do resíduo P271 (4,09 Å e 4,68 Å). Para o hidrogênio ligado na amida lateral, onde temos o grupo Et que corresponde ao R1, há uma interação do tipo ligação de H convencional, para o H ligado ao N, com o átomo de S da cadeia lateral do resíduo M295 (2,27 Å). Para o anel aromático piridínico, há 3 interações, sendo 1 delas com o sistema π (empilhamento π -amida) e 2 delas com 2 dos átomos de H (do tipo ligação de H não-convencional), sendo a primeira com a amida formada entre os resíduos de W142 e G143 (4,05 Å) e as outras 2 com, respectivamente, o átomo de O da cadeia lateral do resíduo E272 (2,47 Å) e com o átomo de O da cadeia lateral de M139 (2,80 Å).

3-N-meta

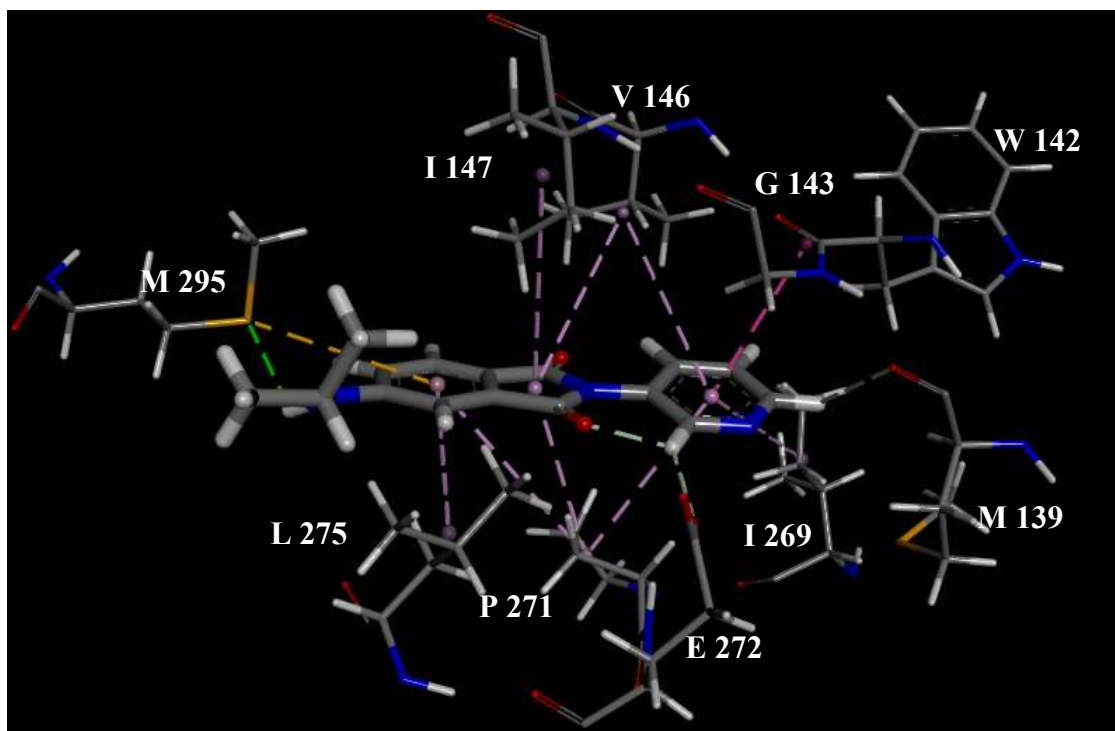


Figura 42: ligante 3-N-meta, na sua melhor pose de interação

Como observa-se na figura 17, que mostra o modo de ligação melhor classificado do ligante 3-N-meta, a região ftalimídica tem duas interações significativas, do tipo hidrofóbica π -alquil, com a cadeia lateral do resíduo P271 (4,16 Å e 4,66 Å). Para o hidrogênio ligado na amida lateral, onde temos o grupo iPr que corresponde ao R1, há uma interação do tipo ligação de H convencional, para o H ligado ao N, com o átomo de S da cadeia lateral do resíduo M295 (2,76 Å). Para o anel aromático piridínico, há 3 interações, sendo 1 delas com o sistema π (empilhamento π -amida) e 2 delas com 2 dos átomos de H (do tipo ligação de H não-convencional), sendo a primeira com a amida formada entre os resíduos de W142 e G143 (4,06 Å) e as outras 2 com, respectivamente, o átomo de O da cadeia lateral do resíduo E272 (2,42 Å) e com o átomo de O da cadeia lateral de M139 (2,85 Å).

4-N-meta

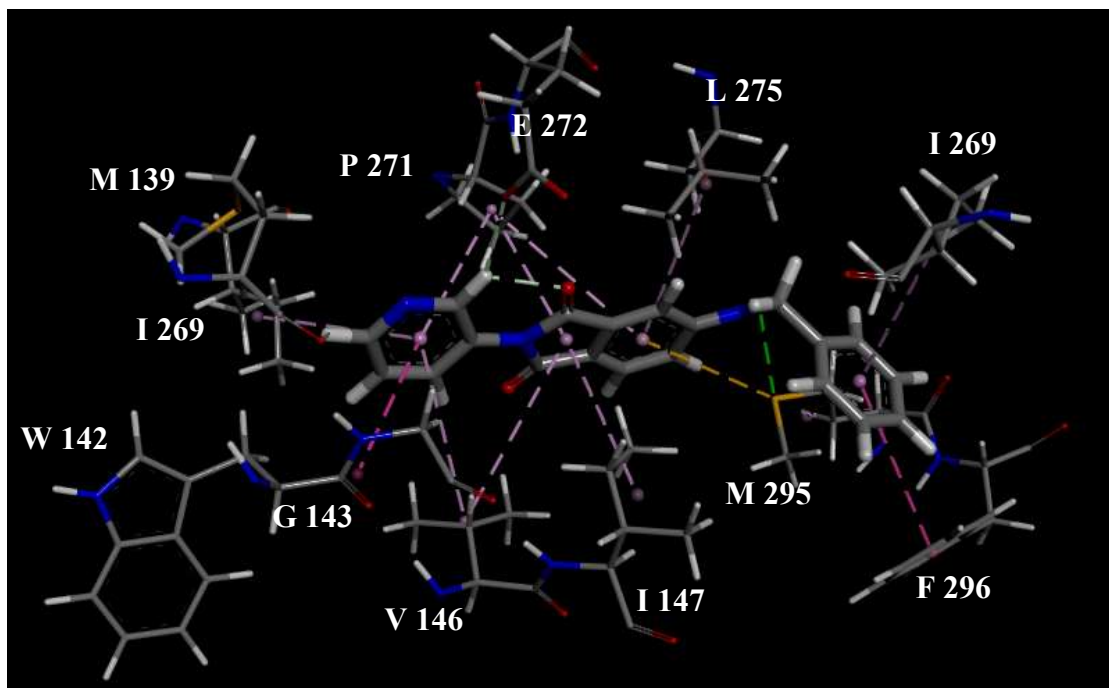


Figura 43: ligante 4-N-meta, na sua melhor pose de interação

Como observa-se na figura 18, que mostra o modo de ligação melhor classificado do ligante 4-N-meta, a região ftalimídica tem duas interações significativas, do tipo hidrofóbica π -alquil, com a cadeia lateral do resíduo P271 (4,08 Å e 4,56 Å). Para o hidrogênio ligado na amida lateral, onde temos o grupo Bz que corresponde ao R1, há uma interação do tipo ligação de H convencional, para o H ligado ao N, com o átomo de S da cadeia lateral do resíduo M295 (2,83 Å). Para o anel aromático do substituinte em R1, temos uma interação, do tipo empilhamento T, com o anel aromático da cadeia lateral do resíduo F296 (4,95 Å). Para o anel aromático piridínico, há uma interação do tipo empilhamento π -amida, com a amida formada entre os resíduos de W142 e G143 (4,05 Å) e outras 2 interações, do tipo ligação de H não convencional, com os dois átomos de H ao redor do N do anel, ocorrendo com: o átomo de O da cadeia lateral do resíduo E272 (2,44 Å) e com o átomo de O da cadeia lateral de M139 (2,85 Å).

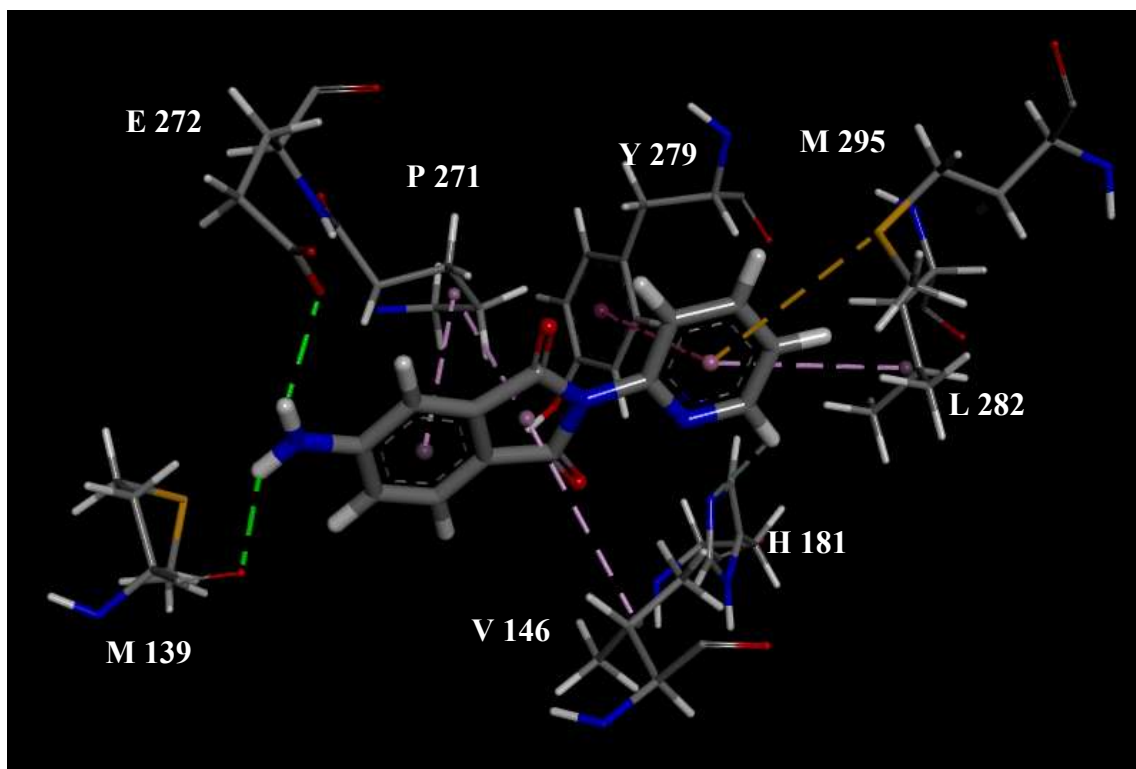


Figura 44: ligante 1-N-orto, na sua melhor pose de interação

Como observa-se na figura 19, que mostra o modo de ligação melhor classificado do ligante 1-N-orto, a região ftalimídica tem três interações significativas, do tipo hidrofóbica π -alquil, com as cadeias laterais dos resíduos P271 (4,16 Å e 4,66 Å) e V146 (4,70 Å). Para os hidrogênios ligados na amida lateral, onde um deles corresponde ao R1, há uma interação do tipo ligação de H convencional para cada um deles, ocorrendo com o átomo de O da carbonila do resíduo M139 (2,29 Å) e com o átomo de O da cadeia lateral de E272 (2,35 Å). Para o anel aromático piridínico, há 4 interações, sendo 3 delas com o sistema π : empilhamento π -amida com a amida formada entre os resíduos W142 e G143 (4,81 Å); hidrofóbica π -enxofre com o S da cadeia lateral do resíduo M295 (4,43 Å); e hidrofóbica π -alquil com a cadeia lateral do resíduo L282 (4,74 Å); e a última das 4, uma interação de H não clássica, entre o átomo de H do carbono vizinho àquele ligado ao N no anel, e átomo de N da cadeia lateral do resíduo H181 (2,50 Å).

2-N-orto

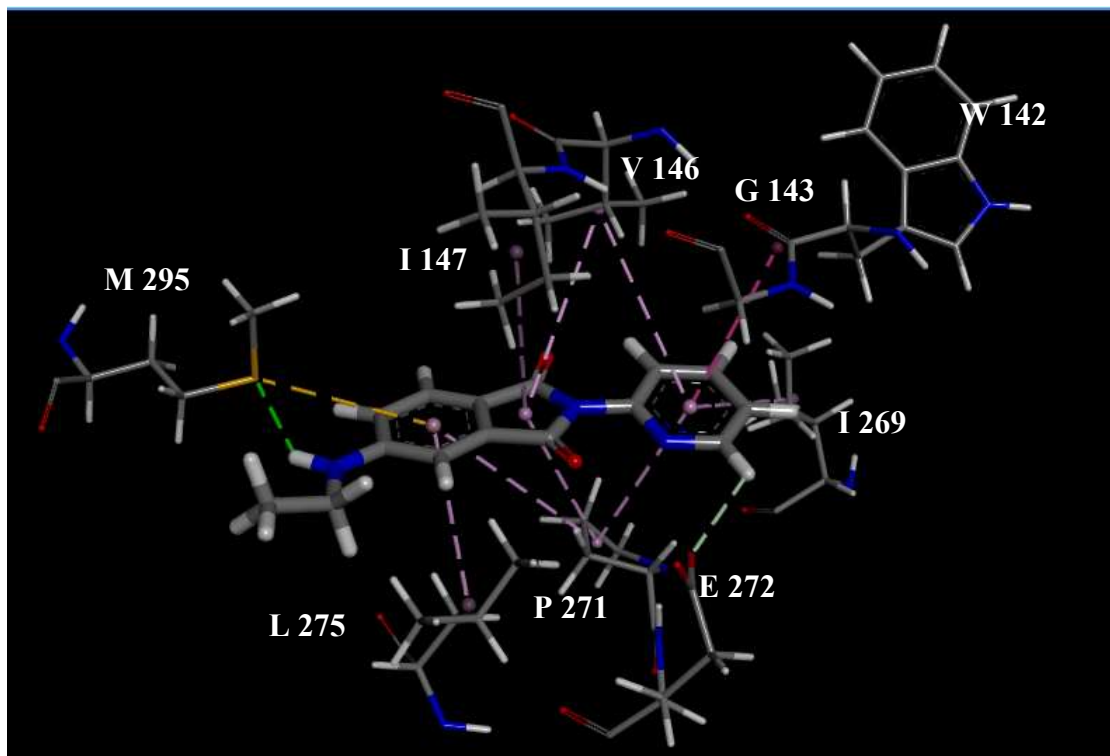


Figura 45: ligante 2-N-orto, na sua melhor pose de interação

Como observa-se na figura 20, que mostra o modo de ligação melhor classificado do ligante 2-N-orto, a região ftalimídica tem três interações significativas, duas do tipo hidrofóbica π -alquil, com a cadeia lateral do resíduo P271 (4,26 Å e 4,36 Å) e uma do tipo hidrofóbica π -enxofre, com o átomo de S da cadeia lateral do resíduo M295 (4,38 Å). Para o hidrogênio ligado na amida lateral, onde temos o substituinte R1, há uma interação do tipo ligação de H convencional, ocorrendo entre esse H ligado ao N e o átomo de S do resíduo M295 (2,49 Å). Para o anel aromático piridínico, há 2 intrações, sendo 1 delas com o sistema π : empilhamento π -amida com a amida formada entre os resíduos W142 e G143 (4,37 Å); e outra, uma interação de H não clássica, entre o átomo de H do carbono vizinho àquele ligado ao N no anel, e átomo de N da cadeia lateral do resíduo E272 (2,76 Å).

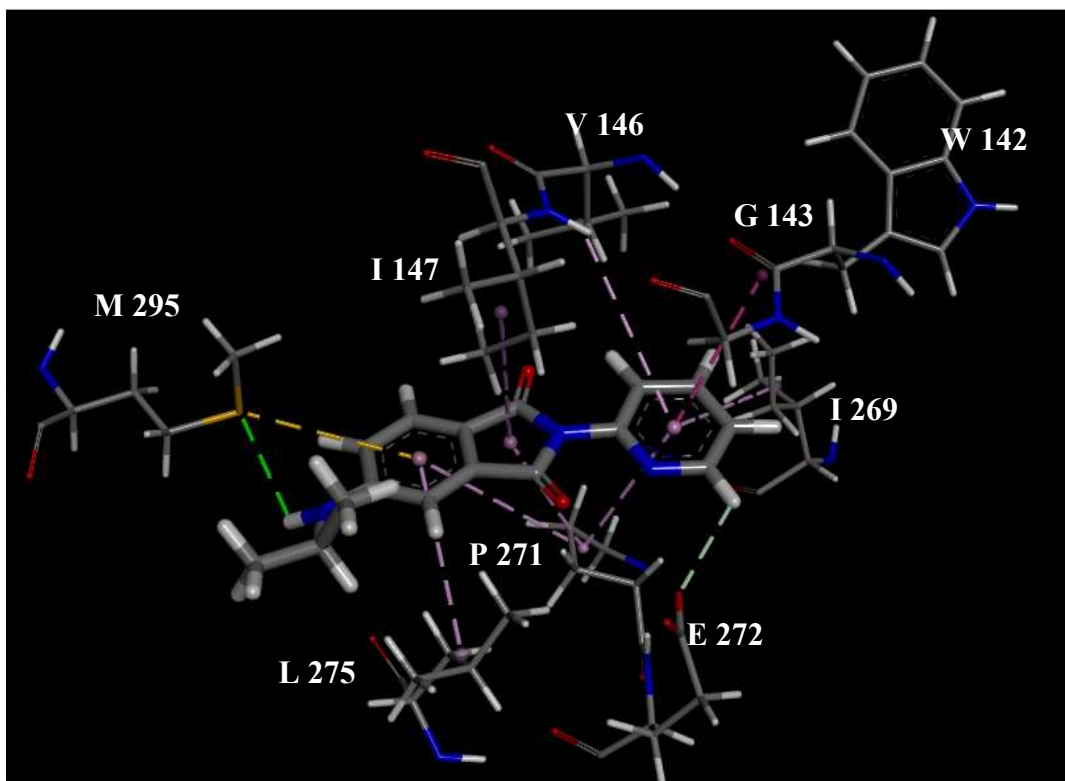


Figura 46: ligante 3-N-orto, na sua melhor pose de interação

Como observa-se na figura 21, que mostra o modo de ligação melhor classificado do ligante 3-N-orto, a região ftalimídica tem 2 interações significativas, uma do tipo hidrofóbica π -alquil, com a cadeia lateral do resíduo P271 (4,25 Å) e uma do tipo hidrofóbica π -enxofre, com o átomo de S da cadeia lateral do resíduo M295 (4,39 Å). Para o hidrogênio ligado na amida lateral, onde temos o substituinte R1, há uma interação do tipo ligação de H convencional, ocorrendo entre esse H ligado ao N e o átomo de S do resíduo M295 (2,94 Å). Para o anel aromático piridínico, há 3 interações, sendo 2 delas com o sistema π : empilhamento π -amida com a amida formada entre os resíduos W142 e G143 (4,39 Å) e hidrofóbica π -alquil, com a cadeia lateral do resíduo P271 (4,42 Å); e a outra, uma interação de H não clássica, entre o átomo de H do carbono vizinho àquele ligado ao N no anel, e átomo de O da cadeia lateral do resíduo E272 (2,77 Å).

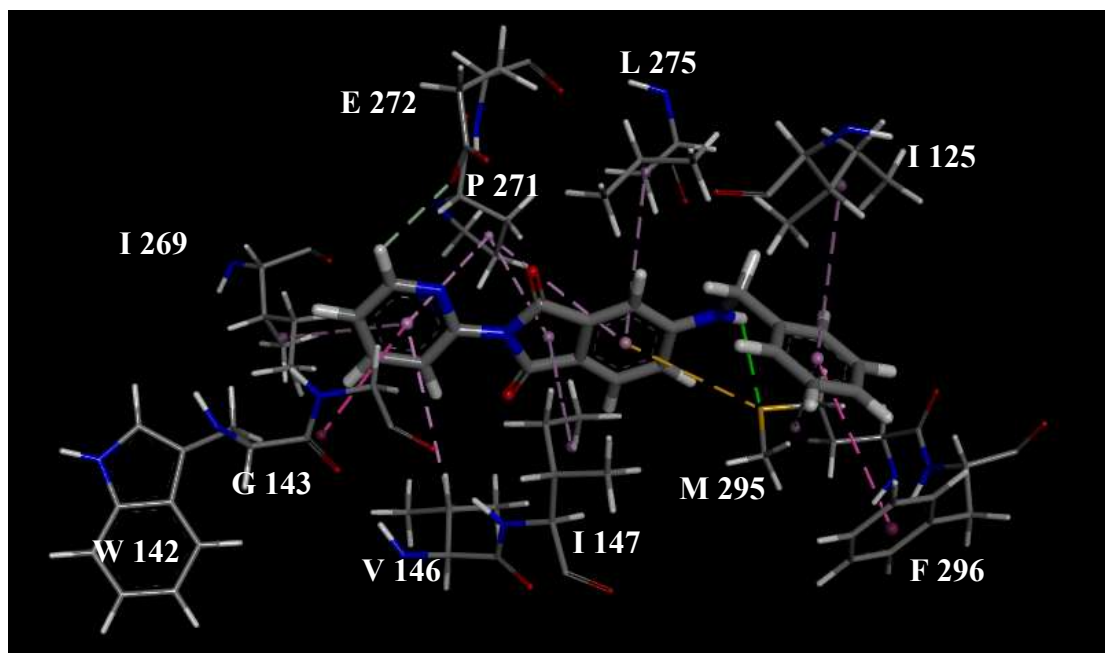


Figura 47: ligante 4-N-orto, na sua melhor pose de interação

Como observa-se na figura 22, que mostra o modo de ligação melhor classificado do ligante 4-N-orto, a região ftalimídica tem 2 interações significativas, uma do tipo hidrofóbica π -alquil, com a cadeia lateral do resíduo P271 (4,14 Å) e uma do tipo hidrofóbica π -enxofre, com o átomo de S da cadeia lateral do resíduo M295 (4,38 Å). Para o hidrogênio ligado na amida lateral, onde temos o grupo Bz que corresponde ao R1, há uma interação do tipo ligação de H convencional, para o H ligado ao N, com o átomo de S da cadeia lateral do resíduo M295 (2,68 Å). Para o anel aromático do substituinte em R1, temos duas interações, uma do tipo empilhamento T, com o anel aromático da cadeia lateral do resíduo F296 (4,90 Å) e uma do tipo hidrofóbica π -alquil, com a cadeia lateral do resíduo M295 (4,17 Å). Para o anel aromático piridínico, há 3 interações, sendo 2 delas com o sistema π : empilhamento π -amida com a amida formada entre os resíduos W142 e G143 (4,25 Å) e hidrofóbica π -alquil, com a cadeia lateral do resíduo P271 (4,49 Å); e a outra, uma interação de H não clássica, entre o átomo de H do carbono vizinho àquele ligado ao N no anel, e átomo de O da cadeia lateral do resíduo E272 (2,79 Å).

1-N-para

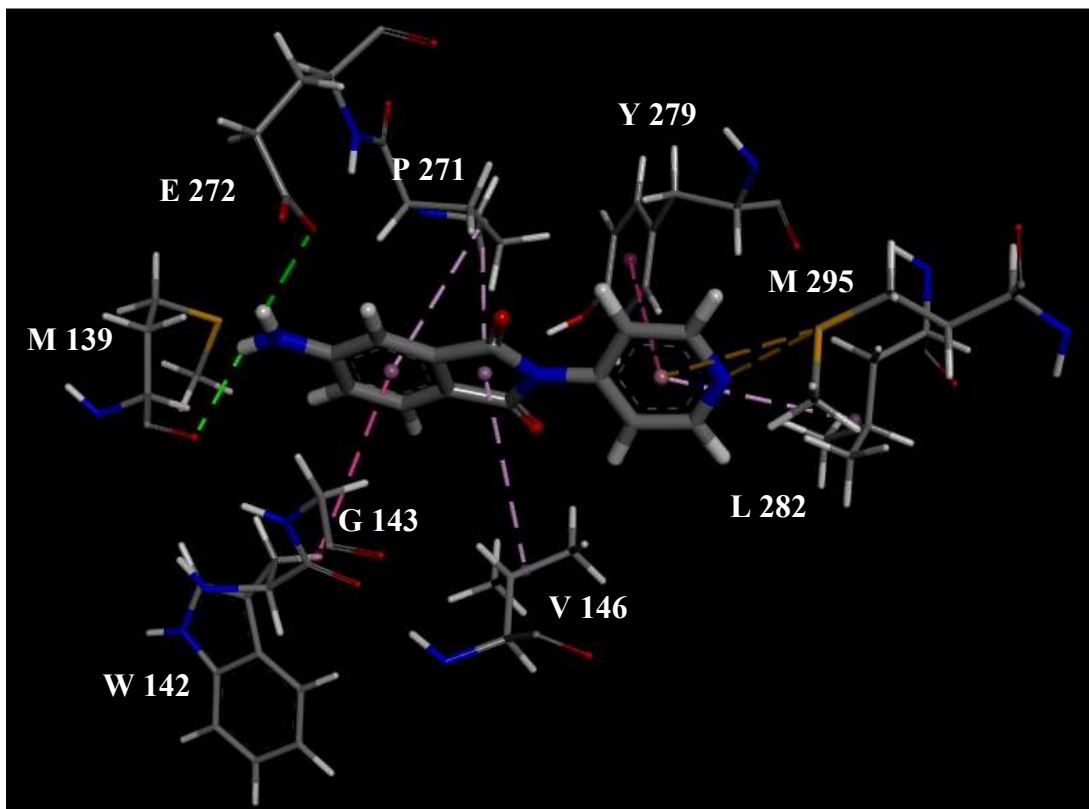


Figura 48: ligante 1-N-para, na sua melhor pose de interação

Como observa-se na figura 23, que mostra o modo de ligação melhor classificado do ligante 1-N-para, a região ftalimídica tem quatro interações significativas, 3 do tipo hidrofóbica π -alquil, com as cadeias laterais dos resíduos P271 (3,93 Å e 4,25 Å) e V146 (4,65 Å) uma do tipo empilhamento π -amida com a amida formada entre os resíduos W142 e G143 (4,55 Å). Para os hidrogênios ligados na amida lateral, onde um deles corresponde ao R1, há uma interação do tipo ligação de H convencional para cada um deles, ocorrendo com o átomo de O da carbonila do resíduo M139 (2,35 Å) e com o átomo de O da cadeia lateral de E272 (2,30 Å). Para o anel aromático piridínico, há 4 interações, sendo 3 delas com o sistema π , na forma de: empilhamento T com o anel aromático da cadeia lateral do resíduo Y279 (4,91 Å); interação hidrofóbica π -enxofre com o S da cadeia lateral do resíduo M295 (4,35 Å); e hidrofóbica π -alquil com a cadeia lateral do resíduo L282 (4,68 Å); e a última das 4, uma interação não-covalente enxofre-nitrogênio, entre o átomo de N do anel, e o átomo de S da cadeia lateral do resíduo M295 (3,26 Å).

2-N-para

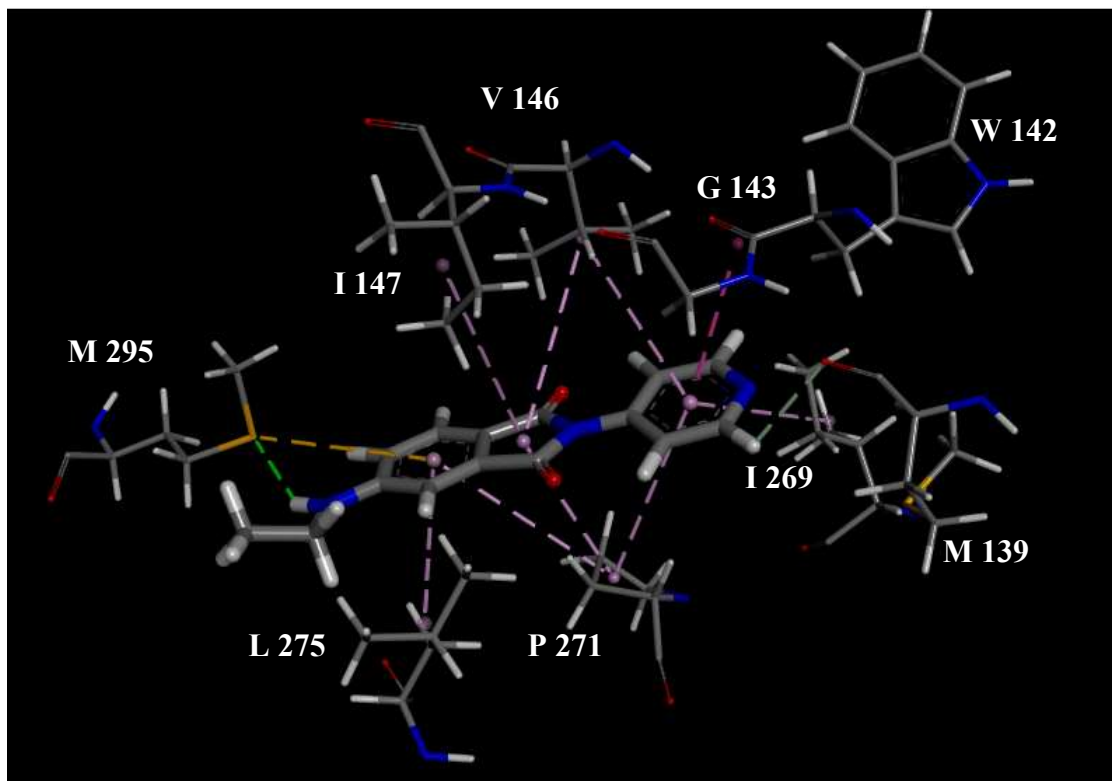


Figura 49: ligante 2-N-para, na sua melhor pose de interação

Como observa-se na figura 24, que mostra o modo de ligação melhor classificado do ligante 2-N-para, a região ftalimídica tem três interações significativas, duas do tipo hidrofóbica π -alquil, com a cadeia lateral do resíduo P271 (4,05 Å e 4,81 Å) e uma do tipo hidrofóbica π -enxofre, com o átomo de S da cadeia lateral do resíduo M295 (4,62 Å). Para o hidrogênio ligado na amida lateral, onde temos o substituinte R1, há uma interação do tipo ligação de H convencional, ocorrendo entre esse H ligado ao N e o átomo de S do resíduo M295 (2,49 Å). Para o anel aromático piridínico, há 3 interações, sendo 2 delas com o sistema π : empilhamento π -amida com a amida formada entre os resíduos W142 e G143 (3,90 Å) e interação hidrofóbica π -alquil com a cadeia lateral do resíduo I269 (5,00 Å); e a última, uma interação de H não clássica, entre um átomo de H de um dos carbonos vizinhos àquele ligado ao N no anel, e o átomo de O da cadeia lateral do resíduo M139 (2,77 Å).

3-N-para

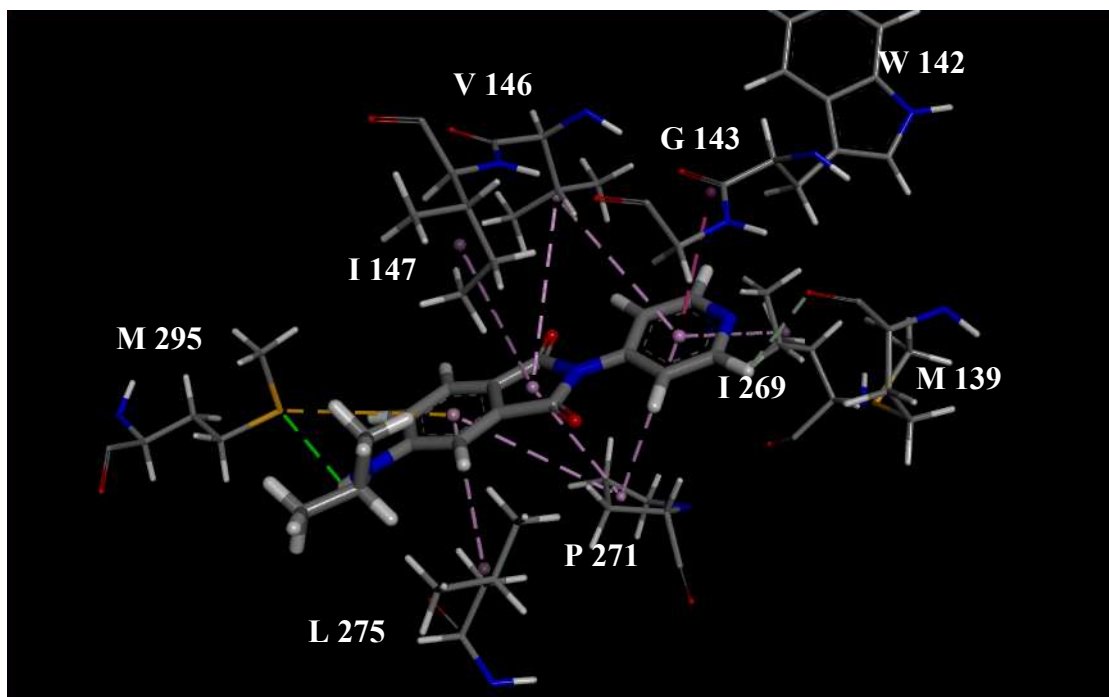


Figura 50: ligante 3-N-para, na sua melhor pose de interação

Como observa-se na figura 25, que mostra o modo de ligação melhor classificado do ligante 3-N-para, a região ftalimídica tem 3 interações significativas, duas do tipo hidrofóbica π -alquil, com a cadeia lateral do resíduo P271 (4,08 Å e 4,82 Å) e uma do tipo hidrofóbica π -enxofre, com o átomo de S da cadeia lateral do resíduo M295 (4,65 Å). Para o hidrogênio ligado na amida lateral, onde temos o substituinte R1, há uma interação do tipo ligação de H convencional, ocorrendo entre esse H ligado ao N e o átomo de S do resíduo M295 (2,90 Å). Para o anel aromático piridínico, há 2 interações, sendo uma delas com o sistema π , na forma de empilhamento π -amida, com a amida formada entre os resíduos W142 e G143 (3,90 Å) e a outra, uma interação de H não clássica, entre um átomo de H ligado a um dos carbonos vizinhos àquele ligado ao N no anel, e átomo de O da cadeia lateral do resíduo M139 (2,75 Å).

4-N-para

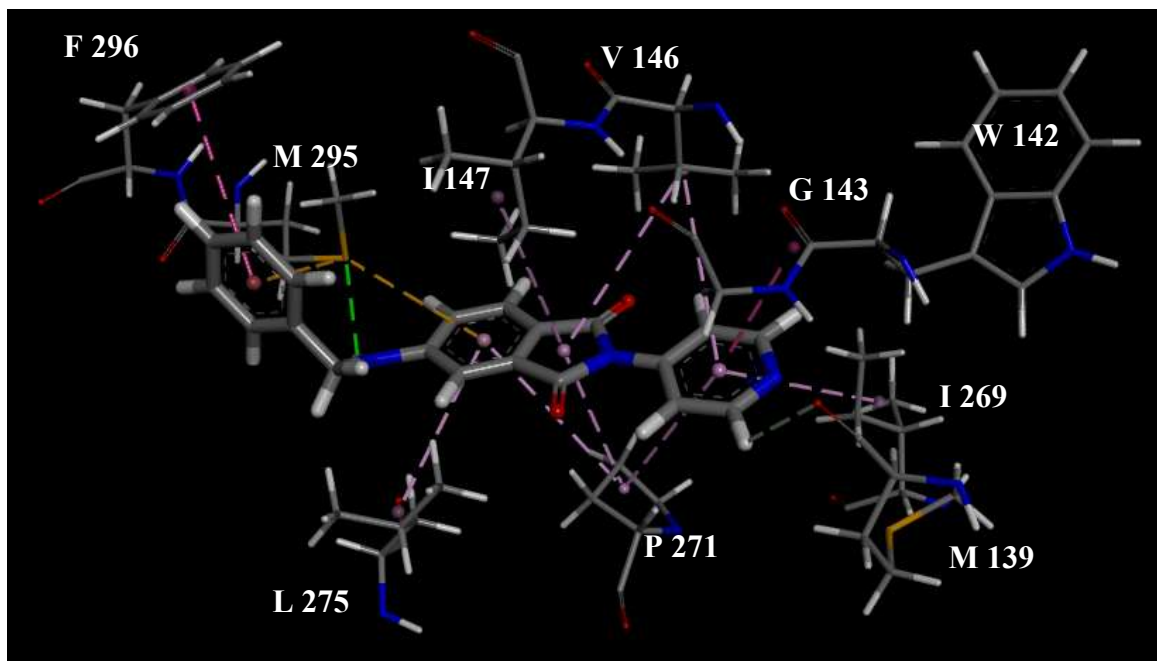


Figura 51: ligante 4-N-para, na sua melhor pose de interação

Como observa-se na figura 26, que mostra o modo de ligação melhor classificado do ligante 4-N-para, a região ftalimídica tem 3 interações significativas, duas do tipo hidrofóbica π -alquil, com a cadeia lateral do resíduo P271 (4,09 Å e 4,83 Å) e uma do tipo hidrofóbica π -enxofre, com o átomo de S da cadeia lateral do resíduo M295 (4,62 Å). Para o hidrogênio ligado na amida lateral, onde temos o grupo Bz que corresponde ao R1, há uma interação do tipo ligação de H convencional, para o H ligado ao N, com o átomo de S da cadeia lateral do resíduo M295 (2,88 Å). Para o anel aromático do substituinte em R1, temos duas interações, uma do tipo empilhamento T, com o anel aromático da cadeia lateral do resíduo F296 (4,95 Å) e uma do tipo hidrofóbica π -enxofre, com o átomo de S da cadeia lateral do resíduo M295 (3,86 Å). Para o anel aromático piridínico, há 2 interações, uma com o sistema π , na forma de empilhamento π -amida, com a amida formada entre os resíduos W142 e G143 (3,89 Å) e uma do tipo interação de H não clássica, entre o átomo de H de um dos carbonos vizinhos àquele ligado ao N no anel, e átomo de O da cadeia lateral do resíduo M139 (2,72 Å).

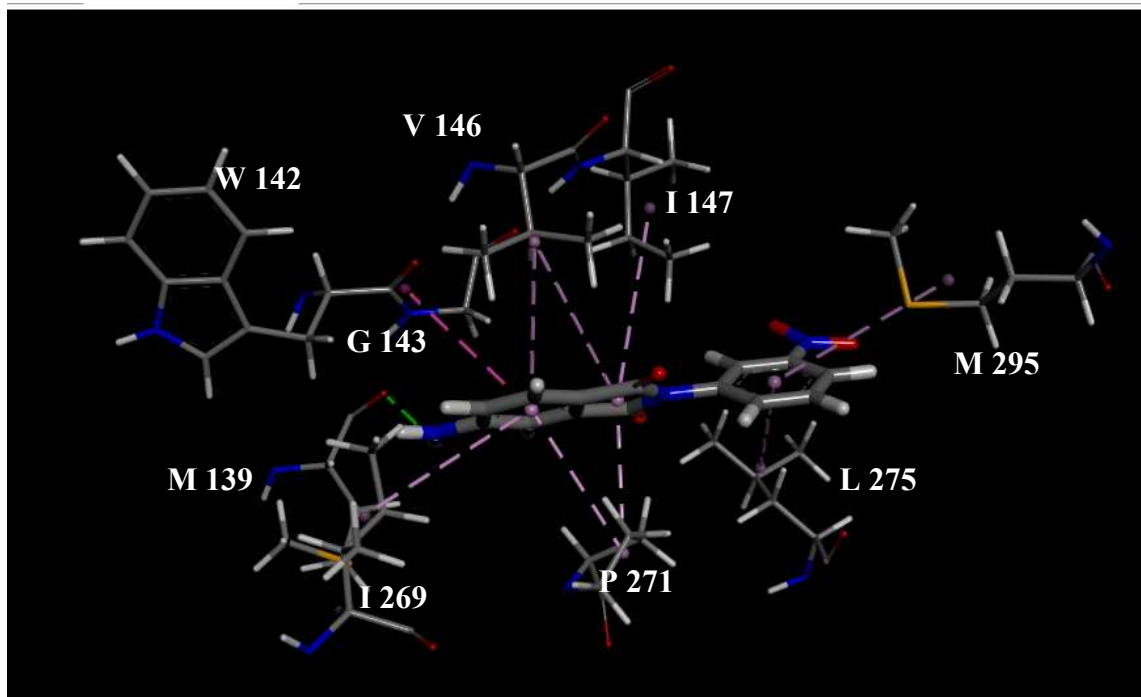


Figura 52: ligante 1-NO₂-meta, na sua melhor pose de interação

Como observa-se na figura 27, que mostra o melhor modo de ligação do ligante 1-NO₂-meta, a região ftalimídica tem quatro interações significativas, sendo 3 do tipo hidrofóbica π -alquil, com as cadeias laterais dos resíduos V146 (4,81 Å) e P271 (4,27 Å e 3,87 Å), e a terceira, do tipo empilhamento π -amida, com a amida formada entre os resíduos W142 e G143 (4,49 Å). Além dessas, também se observa para um dos hidrogênios ligados na amida lateral, em que um deles corresponde ao R1, uma interação do tipo ligação de H convencional, para o H ligado ao N, com o átomo de S da cadeia lateral do resíduo M139 (2,31 Å). Para o anel benzênico onde temos o substituinte NO₂, há uma interação do tipo hidrofóbica do tipo π -alquil, com átomos da cadeia lateral do resíduo L275 (4,44 Å).

2-NO₂-meta

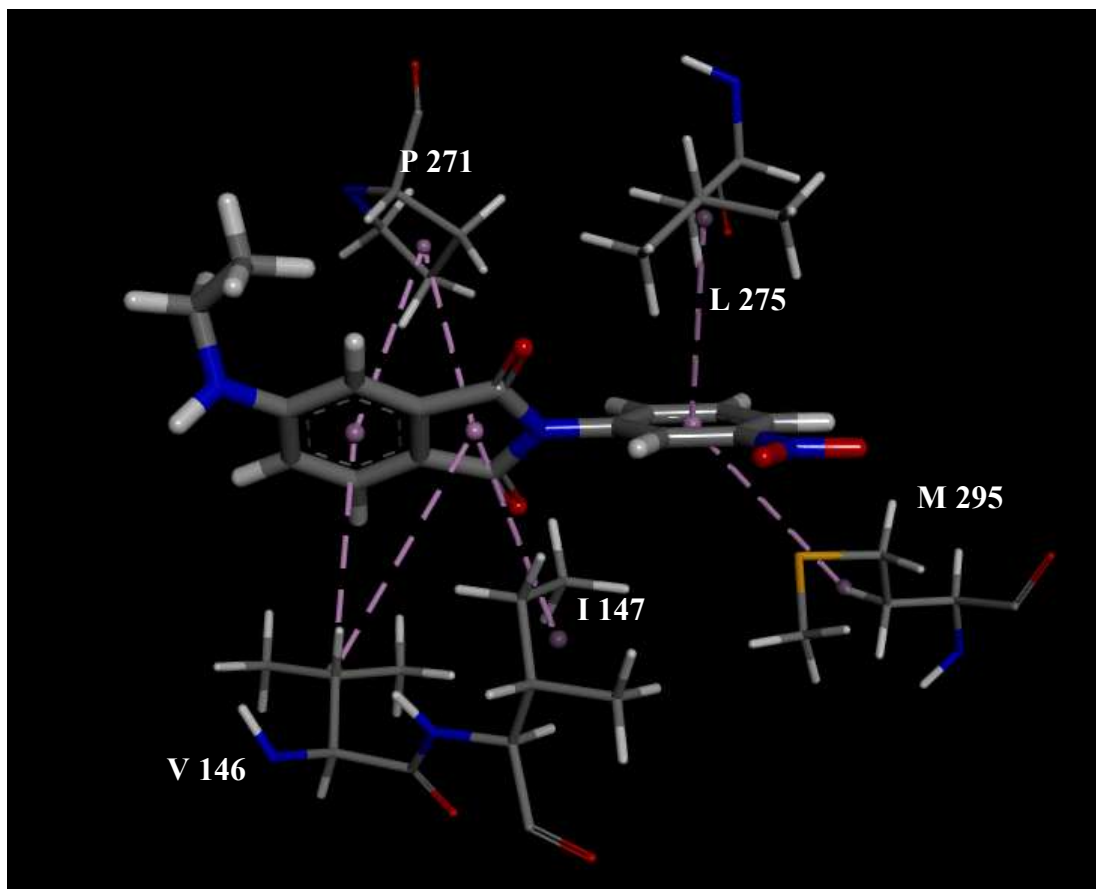


Figura 53: ligante 2-NO₂-meta, na sua melhor pose de interação

Como observa-se na figura 28, que mostra o melhor modo de ligação do ligante 2-NO₂-meta, a região ftalimídica tem três interações significativas, do tipo hidrofóbica π -alquil, com as cadeias laterais dos resíduos V146 (4,42 Å) e P271 (4,04 Å e 4,17 Å). Além dessas, para o anel benzênico onde temos o substituinte NO₂, há uma interação do tipo hidrofóbica do tipo π -alquil, com átomos da cadeia lateral do resíduo L275 (4,39 Å).

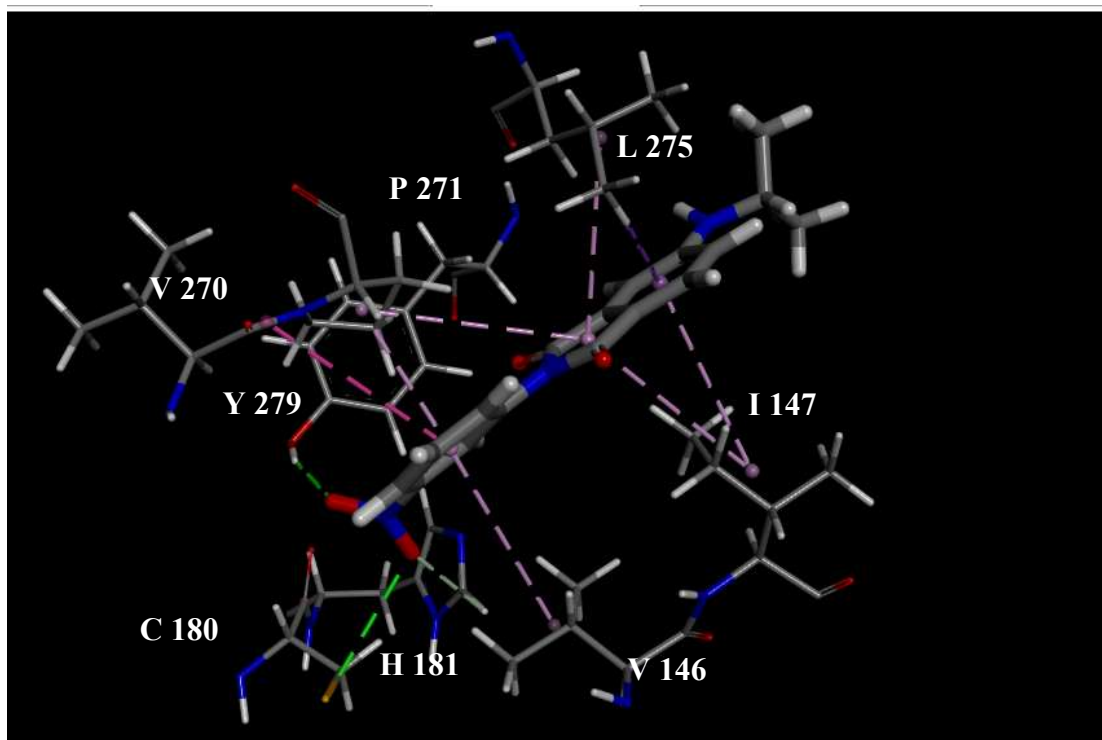


Figura 54: ligante 3-NO₂-meta, na sua melhor pose de interação

Como observa-se na figura 29, que mostra o melhor modo de ligação do ligante 3-NO₂-meta, a região ftalimídica tem quatro interações significativas, sendo 3 delas do tipo hidrofóbica π -alquil, por interação com as cadeias laterais dos resíduos I147 (4,95 Å e 4,68 Å) e L275 (4,50 Å), e a terceira, do tipo hidrofóbica π -sigma, com a cadeia também do resíduo L275 (2,60 Å). Além dessas, observa-se, para o anel benzênico onde temos o substituinte NO₂, 6 interações, sendo 3 delas com o sistema π , na forma de: duas interações hidrofóbica π -alquil, com as cadeias laterais dos resíduos P271 (3,78 Å) e V146 (4,94 Å); e uma interação do tipo empilhamento π -amida, com a amida formada entre os resíduos V270 e P271 (4,76 Å); para além disso, as demais 3 restantes ocorrem com os átomos de O do substituinte, sendo 2 delas ligações de H convencionais, entre um O do NO₂ e o OH da cadeia lateral do resíduo Y279 (2,09 Å), entre o outro O do NO₂ e o H ligado ao S da cadeia lateral do resíduo de C180 (3,78 Å), sendo a última delas outra interação do tipo ligação de H não convencional, entre um dos O do NO₂ e o H ligado ao carbono que é ligado ao N na cadeia lateral do resíduo H181 (3,01 Å).

4-NO₂-meta

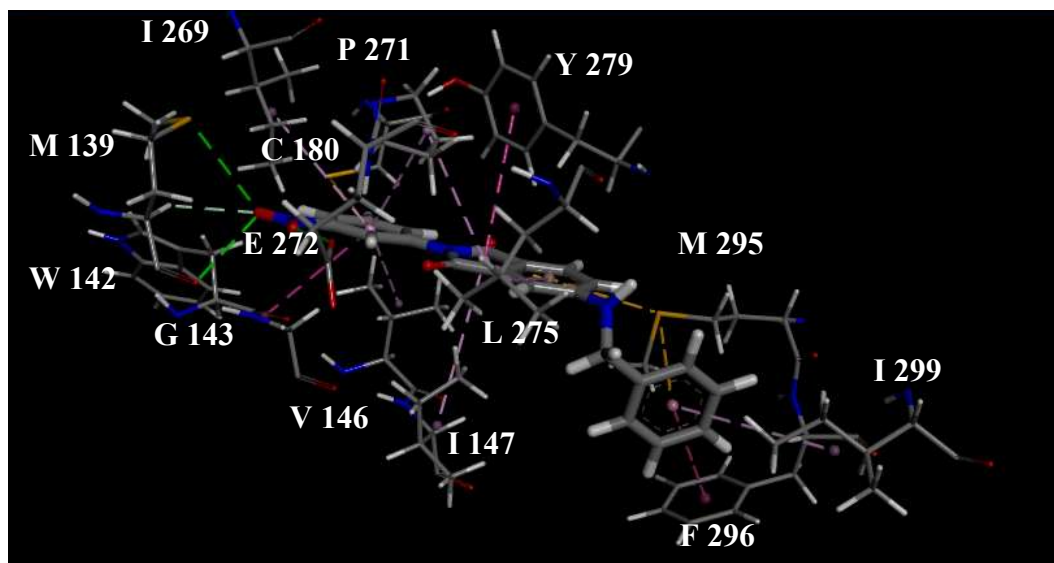


Figura 55: ligante 4-NO₂-meta, na sua melhor pose de interação

Como observa-se na figura 30, que mostra o modo de ligação melhor classificado do ligante 4-NO₂-meta, a região ftalimídica tem 3 interações significativas, duas do tipo hidrofóbica π -alquil, com as cadeias laterais dos resíduos P271 (4,48 Å) e L275 (4,91 Å) e uma do tipo hidrofóbica π -enxofre, com o átomo de S da cadeia lateral do resíduo M295 (4,01 Å). Para o anel aromático do substituinte em R2, temos duas interações, uma do tipo empilhamento T, com o anel aromático da cadeia lateral do resíduo F296 (4,77 Å) e uma do tipo hidrofóbica π -enxofre, com o átomo de S da cadeia lateral do resíduo M295 (3,97 Å). Para o anel aromático do substituinte R1, há 3 interações com o sistema π , sendo uma na forma de empilhamento π -amida, com a amida formada entre os resíduos W142 e G143 (4,52 Å) e duas do tipo hidrofóbica π -alquil, com as cadeias laterais dos resíduos P271 (4,54 Å) e V146 (4,09 Å) e há 4 interações com os átomos de O ligados ao substituinte NO₂, sendo que: a primeira delas é ligação de H convencional, entre o átomo de H do OH da cadeia lateral do resíduo de E272 (3,25 Å); a segunda é uma interação oxigênio-enxofre, entre ou outro átomo O do NO₂ e o átomo de enxofre da cadeia lateral do resíduo de M139 (3,64 Å); a terceira é uma interação de doação de densidade de par de elétrons, entre um dos átomos de O e a carbonila do resíduo M139 (3,00 Å); e a última delas sendo uma ligação de H não-convencional entre o átomo de O do substituinte NO₂ e o H do carbono vizinho à carbonila que doa densidade eletrônica, presentes no resíduo de M139 (2,75 Å).

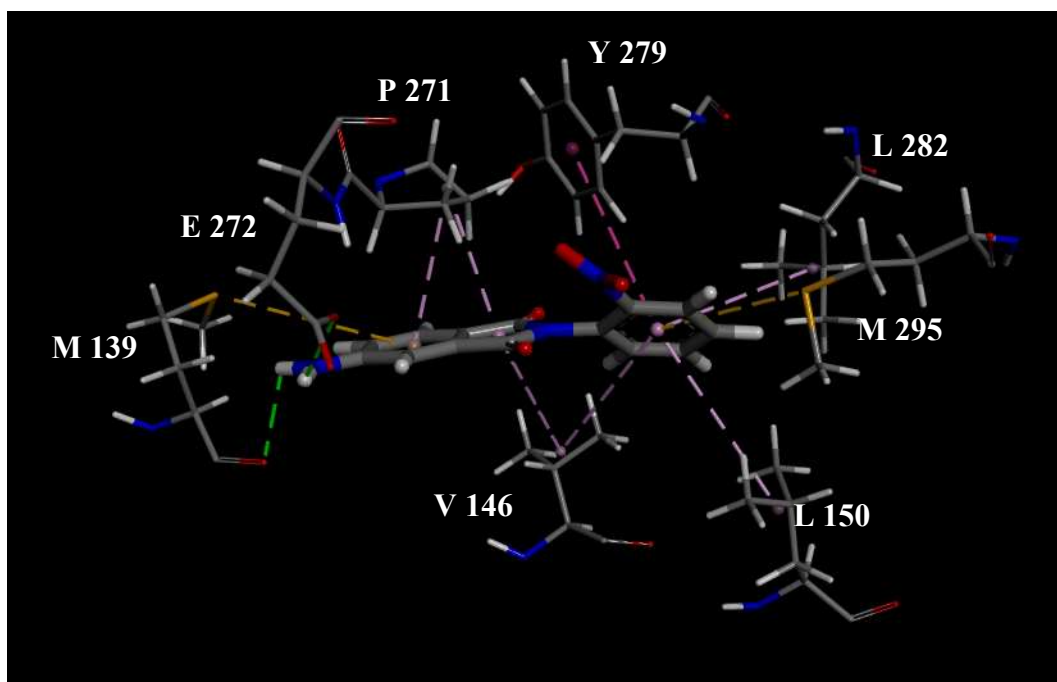


Figura 56: ligante 1-NO₂-orto, na sua melhor pose de interação

Como observa-se na figura 31, que mostra o melhor modo de ligação do ligante 1-NO₂-orto, a região ftalimídica tem três interações significativas, do tipo hidrofóbica π -alquil, com as cadeias laterais dos resíduos V146 (4,64 Å) e P271 (4,12 Å e 3,94 Å). Além dessas, também se observa para os hidrogênios ligados na amida lateral, em que um deles corresponde ao R1, uma interação do tipo ligação de H convencional, para ambos os hidrogênios ligados ao N, sendo uma delas com o átomo de S da cadeia lateral do resíduo M139 (2,51 Å) e a outra com o átomo de O da cadeia lateral do resíduo E272 (2,47 Å). Para o anel benzênico onde temos o substituinte NO₂, há uma 2 interações: uma do tipo hidrofóbica do tipo π -alquil, com átomos da cadeia lateral do resíduo L282 (4,76 Å) e uma do tipo hidrofóbica π -enxofre, com o átomo de S da cadeia lateral do resíduo M295 (4,33 Å).

2-NO₂-orto

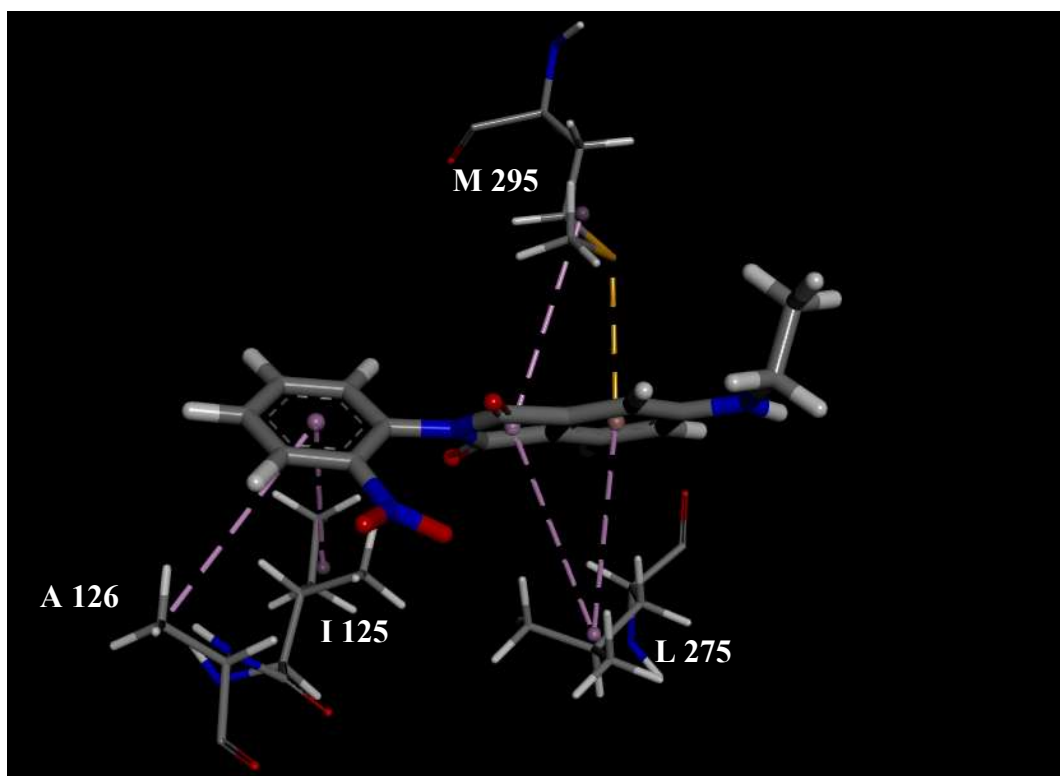


Figura 57: ligante 2-NO₂-orto, na sua melhor pose de interação

Como observa-se na figura 32, que mostra o melhor modo de ligação do ligante 2-NO₂-orto, a região ftalimídica tem três interações significativas, duas do tipo hidrofóbica π -alquil, com as cadeias laterais dos resíduos L275 (4,80 Å) e M295 (4,79 Å) e uma do tipo hidrofóbica π -enxofre, com o átomo de S da cadeia lateral do resíduo M295 (3,45 Å). Além dessas, para o anel benzênico onde temos o substituinte NO₂, há uma interação do tipo hidrofóbica do tipo π -alquil, com átomos da cadeia lateral do resíduo I125 (4,38 Å).

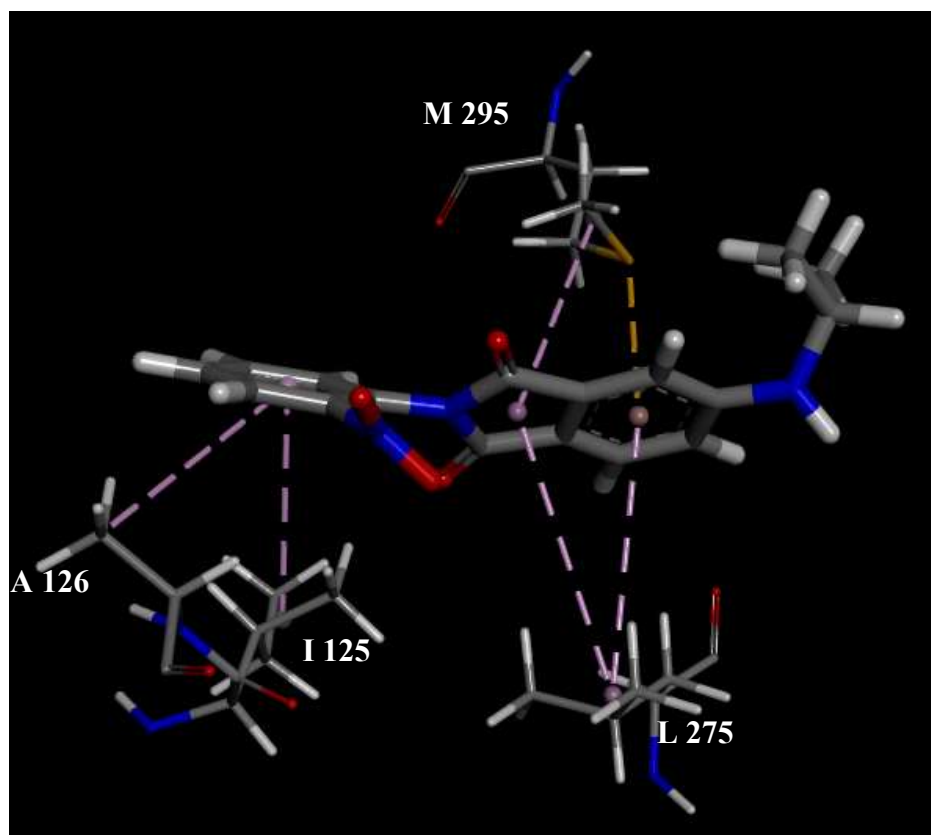


Figura 58: ligante 3-NO₂-orto, na sua melhor pose de interação

Como observa-se na figura 33, que mostra o melhor modo de ligação do ligante 3-NO₂-orto, a região ftalimídica tem três interações significativas, duas do tipo hidrofóbica π -alquil, com as cadeias laterais dos resíduos L275 (4,86 Å) e M295 (4,83 Å) e uma do tipo hidrofóbica π -enxofre, com o átomo de S da cadeia lateral do resíduo M295 (3,45 Å). Além dessas, para o anel benzênico onde temos o substituinte NO₂, há uma interação do tipo hidrofóbica do tipo π -alquil, com átomos da cadeia lateral do resíduo I125 (4,35 Å).

4-NO₂-orto

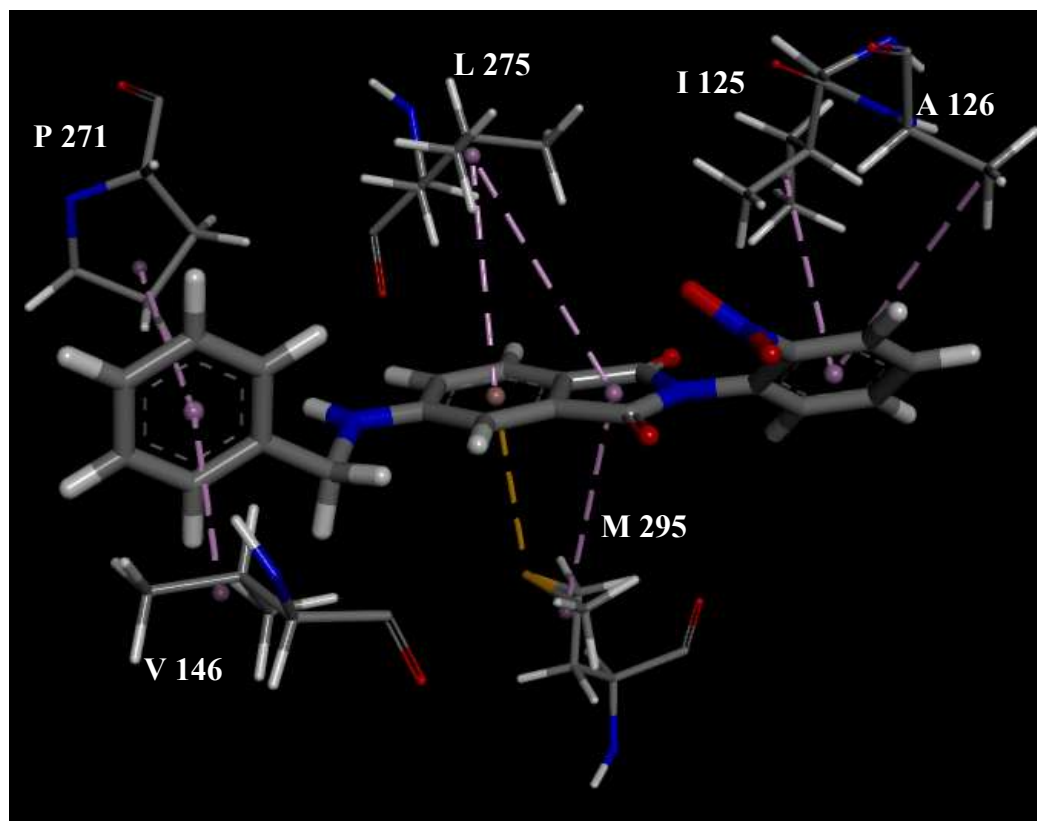


Figura 59: ligante 4-NO₂-orto, na sua melhor pose de interação

Como observa-se na figura 34, que mostra o melhor modo de ligação do ligante 4-NO₂-orto, a região ftalimídica tem três interações significativas, duas do tipo hidrofóbica π -alquil, com as cadeias laterais dos resíduos L275 (4,49 Å) e M295 (4,85 Å) e uma do tipo hidrofóbica π -enxofre, com o átomo de S da cadeia lateral do resíduo M295 (3,80 Å). Além dessas, se observa, para o anel aromático que faz parte do substituinte R2, duas interações do tipo hidrofóbica π -alquil, com as cadeias laterais dos resíduos V146 (4,07 Å) e P271 (4,15 Å). Para o anel benzênico onde temos o substituinte NO₂, há uma interação do tipo hidrofóbica do tipo π -alquil, com átomos da cadeia lateral do resíduo I125 (4,43 Å).

1-NO₂-para

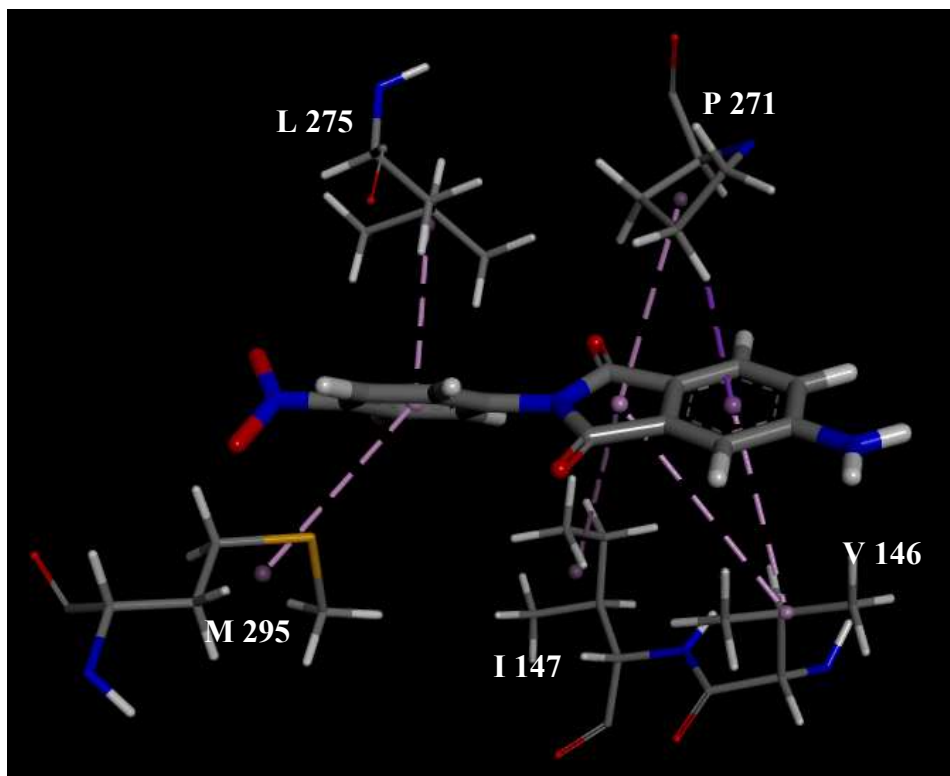


Figura 60: ligante 1-NO₂-para, na sua melhor pose de interação

Como observa-se na figura 35, que mostra o melhor modo de ligação do ligante 1-NO₂-para, a região ftalimídica tem três interações significativas, sendo duas delas do tipo hidrofóbica π -alquil, com as cadeias laterais dos resíduos V146 (4,12 Å) e P271 (4,22 Å) e a terceira do tipo hidrofóbica π -sigma, com a cadeia lateral também do resíduo P271 (2,63 Å). Para o anel benzênico onde temos o substituinte NO₂, há uma interação do tipo hidrofóbica do tipo π -alquil, com átomos da cadeia lateral do resíduo L275 (4,18 Å).

2-NO₂-para

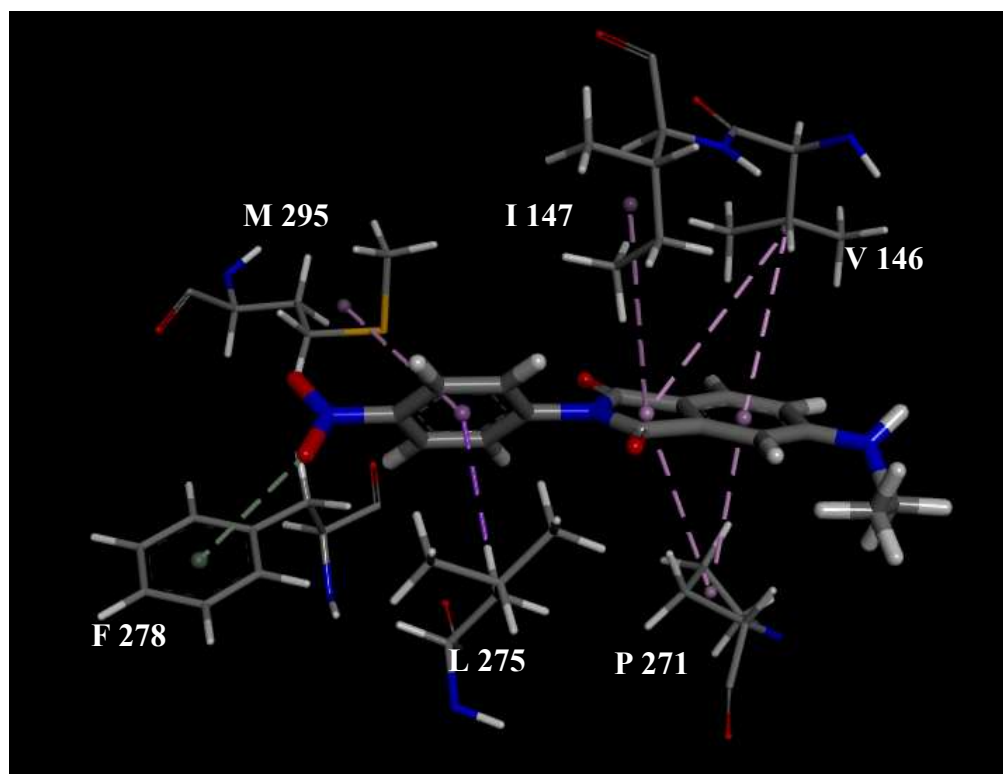


Figura 61: ligante 2-NO₂-para, na sua melhor pose de interação

Como observa-se na figura 36, que mostra o melhor modo de ligação do ligante 2-NO₂-para, a região ftalimídica tem três interações significativas, do tipo hidrofóbica π -alquil, por interação com as cadeias laterais dos resíduos V146 (4,48 Å) e P271 (4,32 Å e 3,93 Å). Para o anel benzênico onde temos o substituinte NO₂, há 2 interações, uma com o sistema π , sendo uma interação hidrofóbica do tipo π -sigma, com a cadeia lateral do resíduo L275 (2,94 Å) e a outra interação com um dos átomos de O do substituinte NO₂, por meio de uma ligação de H do tipo doador π , em que o O do substituinte recebe doação de densidade de elétrons π por parte do anel aromático da cadeia lateral do resíduo de F278 (4,06 Å).

3A-NO₂-para

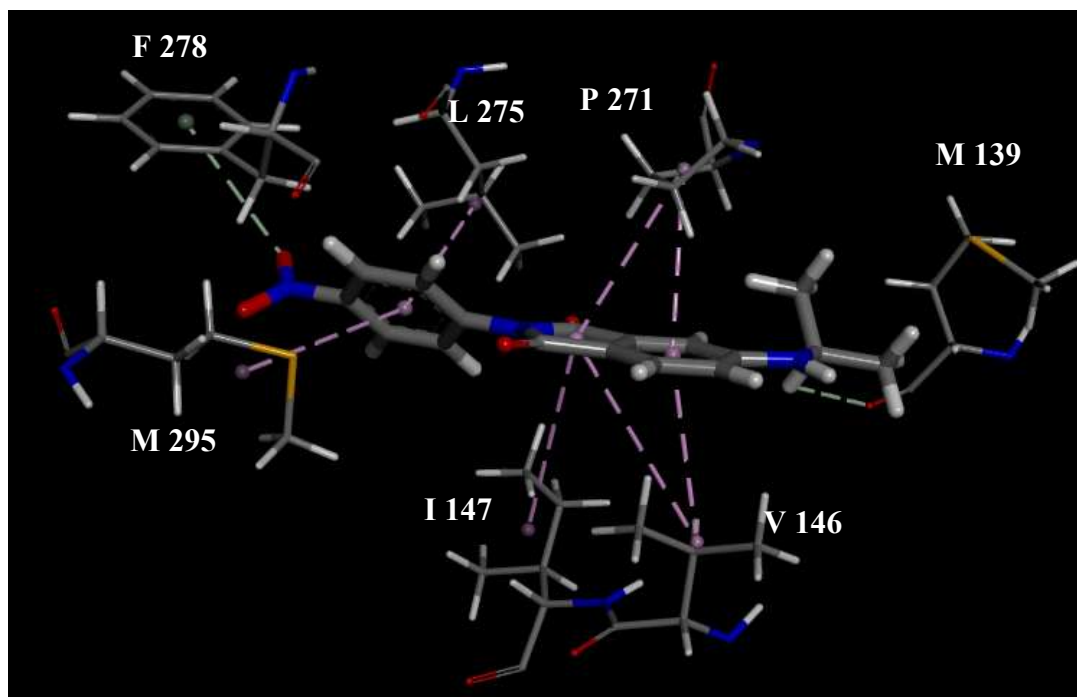


Figura 62: ligante 3A-NO₂-para, na sua melhor pose de interação

Como observa-se na figura 37, que mostra o melhor modo de ligação do ligante 3A-NO₂-para, a região ftalimídica tem três interações significativas, todas do tipo hidrofóbica π -alquil, causadas pela interação com as cadeias laterais dos resíduos V146 (4,23 Å) e P271 (4,10 Å e 4,42 Å). Também se observa, para o hidrogênio ligado ao carbono central do substituinte R1, uma interação do tipo ligação de H não-convencional, entre esse H e o átomo de O da cadeia lateral do resíduo M139 (3,06 Å). Para o anel benzênico onde temos o substituinte NO₂, há uma interação do tipo hidrofóbica do tipo π -alquil com o sistema π , com interação dos elétrons π e a cadeia lateral do resíduo L275 (4,18 Å), e uma outra interação, do tipo ligação de H por doação de densidade π , que ocorre entre um dos átomos de O do substituinte, que recebe densidade π , e o do sistema aromático da cadeia lateral do resíduo de F278 (4,03 Å).

3B-NO₂-para

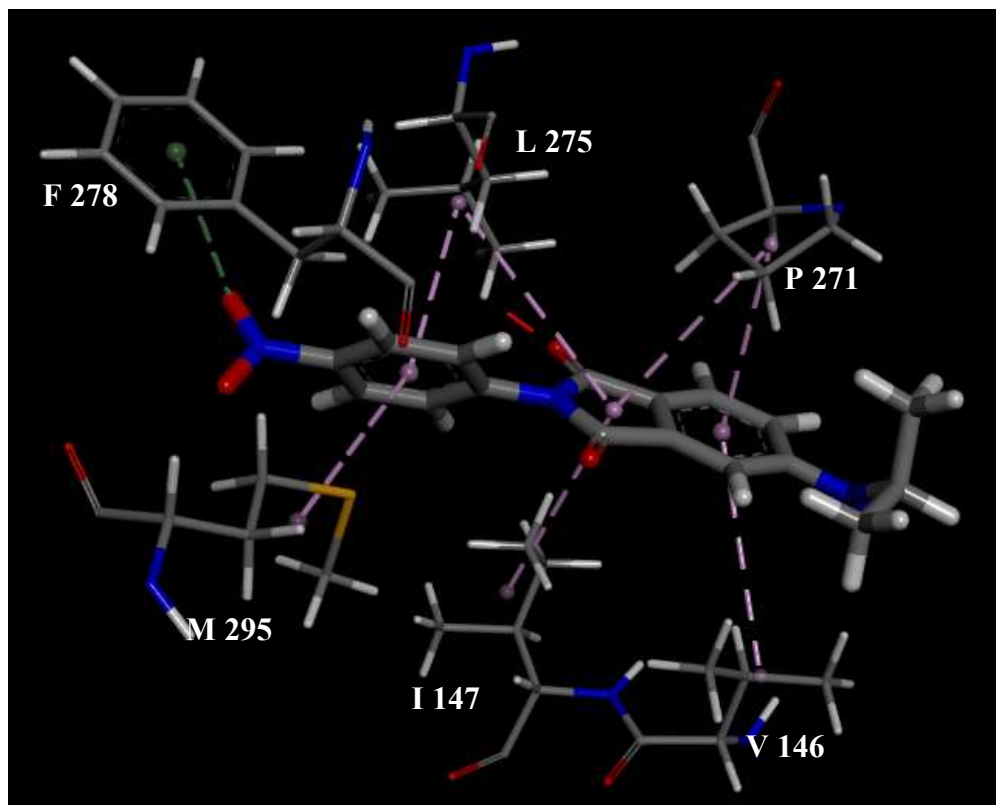


Figura 63: ligante 3B-NO₂-para, na sua melhor pose de interação

Como observa-se na figura 38, que mostra o melhor modo de ligação do ligante 3B-NO₂-para, a região ftalimídica tem quatro interações significativas, todas do tipo hidrofóbica π -alquil, causadas pela interação com as cadeias laterais dos resíduos V146 (4,73 Å), I147 (4,92 Å) e P271 (4,05 Å e 4,44 Å). Para o anel benzênico onde temos o substituinte NO₂, há uma interação do tipo hidrofóbica do tipo π -alquil com o sistema π , com interação dos elétrons e a cadeia lateral do resíduo L275 (4,18 Å), mas também há uma região de impedimento estérico por aproximação do resíduo L275 da carbonila do sistema ftalimídico; Há ainda uma outra interação, do tipo ligação de H por doação de densidade π , que ocorre entre um dos átomos de O do substituinte, que recebe densidade π , e o sistema aromático da cadeia lateral do resíduo de F278 (4,07 Å).

4-NO₂-para

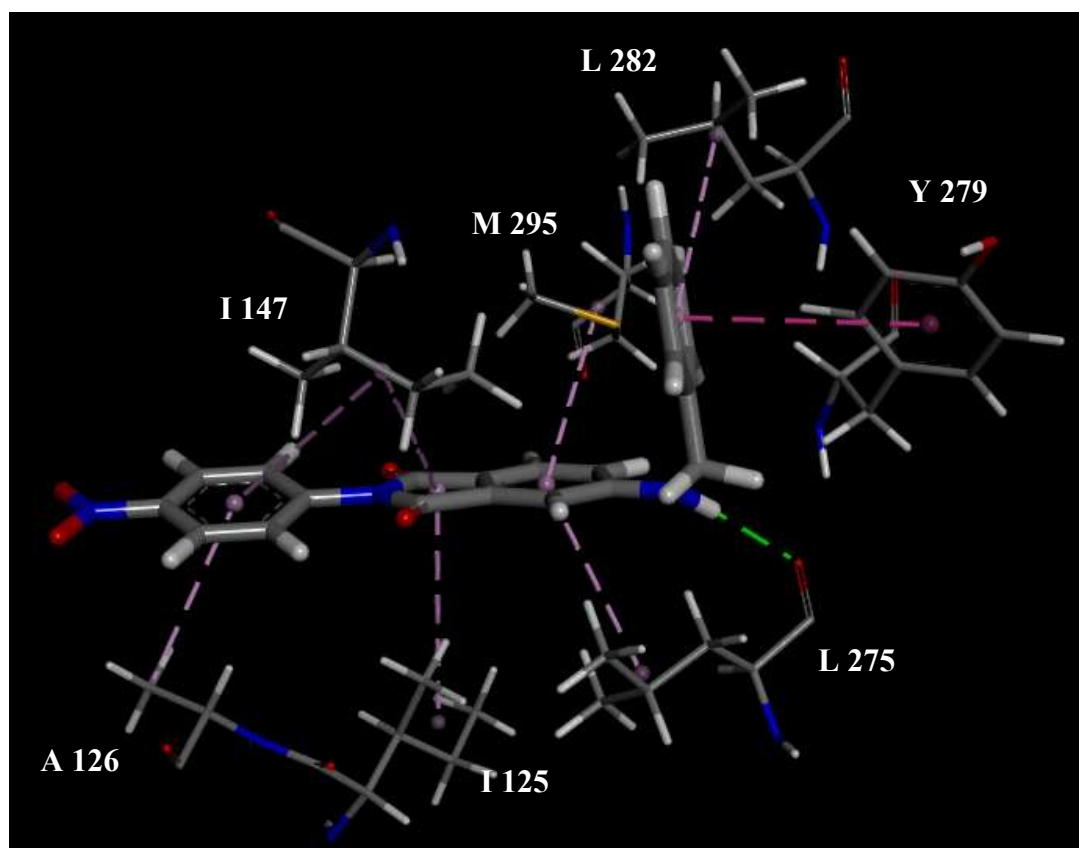


Figura 64: ligante 4-NO₂-para, na sua melhor pose de interação

Como observa-se na figura 39, que mostra o melhor modo de ligação do ligante 4-NO₂-para, a região ftalimídica tem três interações significativas, todas do tipo hidrofóbica π -alquil, causadas pela interação com as cadeias laterais dos resíduos M295 (4,82 Å), I147 (4,81 Å) e L275 (4,59 Å). Para o anel benzênico onde temos o substituinte NO₂, há uma interação do tipo hidrofóbica do tipo π -alquil com o sistema π do anel, por interação dos elétrons e a cadeia lateral do resíduo A126 (4,10 Å). Há ainda uma outra interação, com o anel aromático que faz parte do substituinte R2, sendo esta uma interação do tipo empilhamento T, entre o anel aromático do substituinte e o anel aromático da cadeia lateral do resíduo de Y279 (4,84 Å).

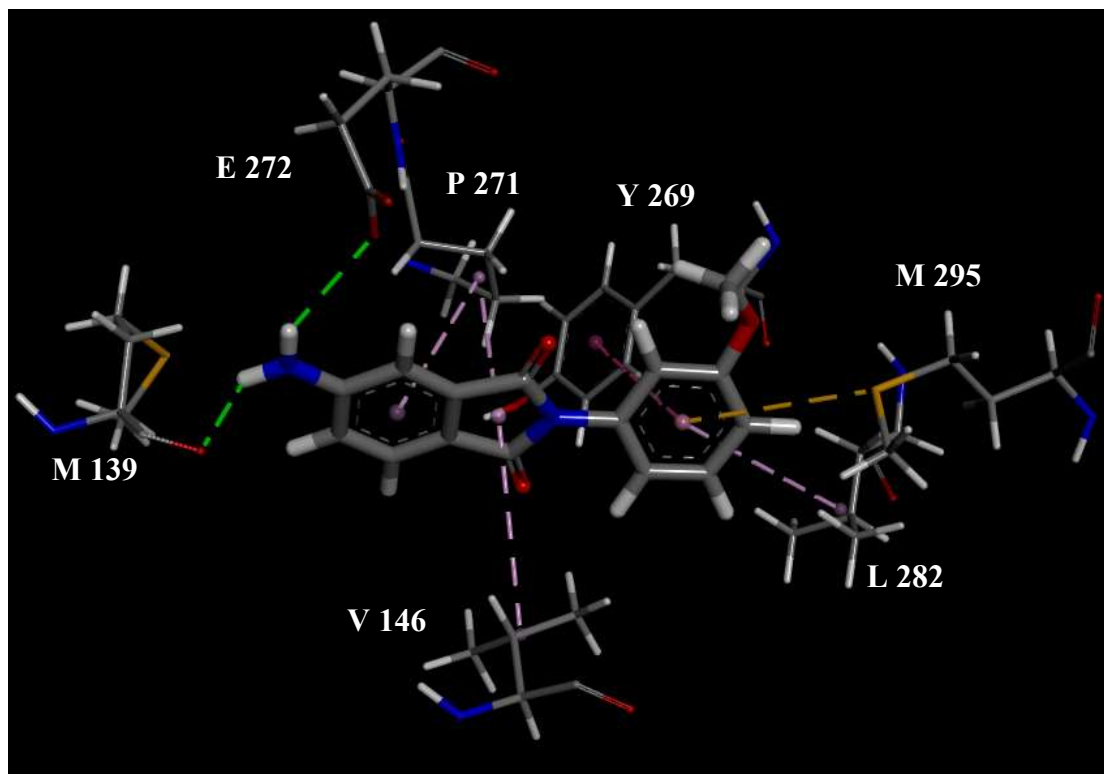


Figura 65: ligante 1-OMe-meta, na sua melhor pose de interação

Como observa-se na figura 40, que mostra o modo de ligação melhor classificado do ligante 1-OMe-meta, a região ftalimídica tem três interações significativas, do tipo hidrofóbica π -alquil, com as cadeias laterais dos resíduos P271 (4,33 Å e 3,88 Å) e V146 (4,75 Å). Para os hidrogênios ligados na amida lateral, onde um deles é o substituinte R2, há uma duas interações do tipo ligação de H convencional, ocorrendo uma entre um dos hidrogênios ligado ao N e o átomo de O do resíduo M139 (2,49 Å – acceptor de H) e a outra se formando entre o outro H e o OH presente na cadeia lateral de E272 (2,09 Å – acceptor de H). Para o anel aromático em R1, há 3 interações: uma do tipo hidrofóbica π -alquil, com a cadeia lateral do resíduo L282 (4,83 Å); uma do tipo hidrofóbica π -enxofre, entre o sistema π do anel e o átomo de S do resíduo de M295 (4,26 Å); e por fim, uma do tipo empilhamento T, entre o sistema aromático do ligante e o sistema aromático do resíduo Y279 (4,88 Å).

2-OMe-meta

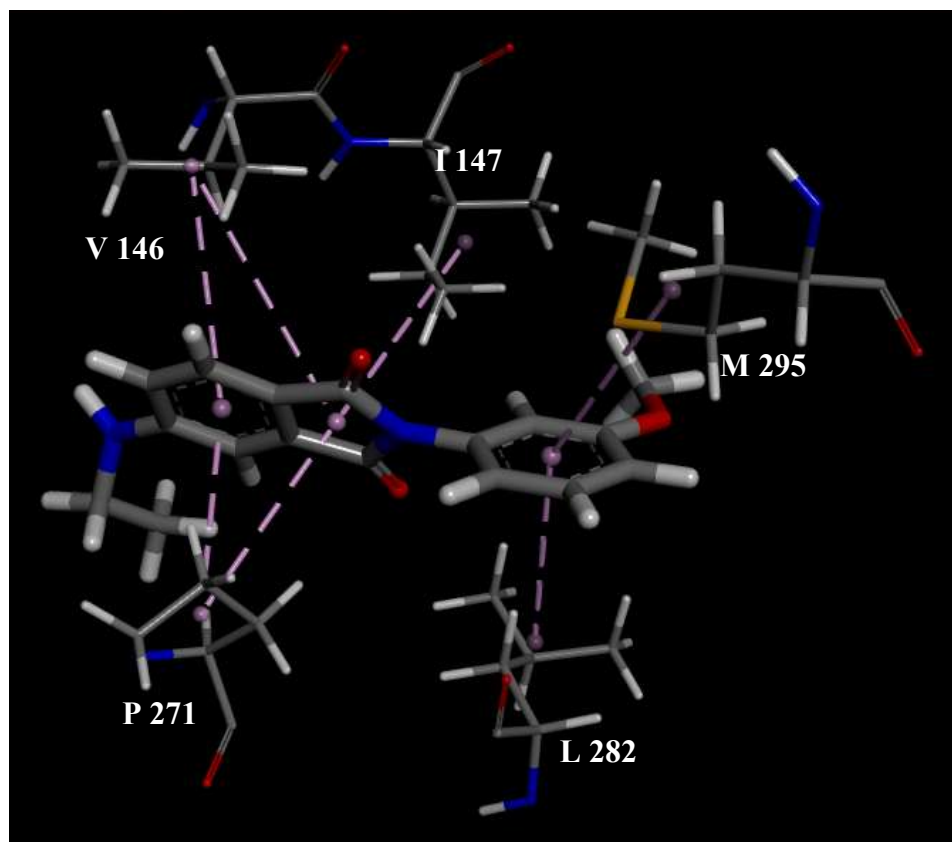


Figura 66: ligante 2-OMe-meta, na sua melhor pose de interação

Como observa-se na figura 41, que mostra o modo de ligação melhor classificado do ligante 2-OMe-meta, a região ftalimídica tem três interações significativas, do tipo hidrofóbica π -alquil, com as cadeias laterais dos resíduos P271 (4,27 Å e 3,95 Å) e V146 (4,46 Å). Para o anel aromático do substituinte R1, há 1 interação do tipo hidrofóbica π -alquil, com a cadeia lateral do resíduo L275 (4,16 Å).

3-OMe-meta

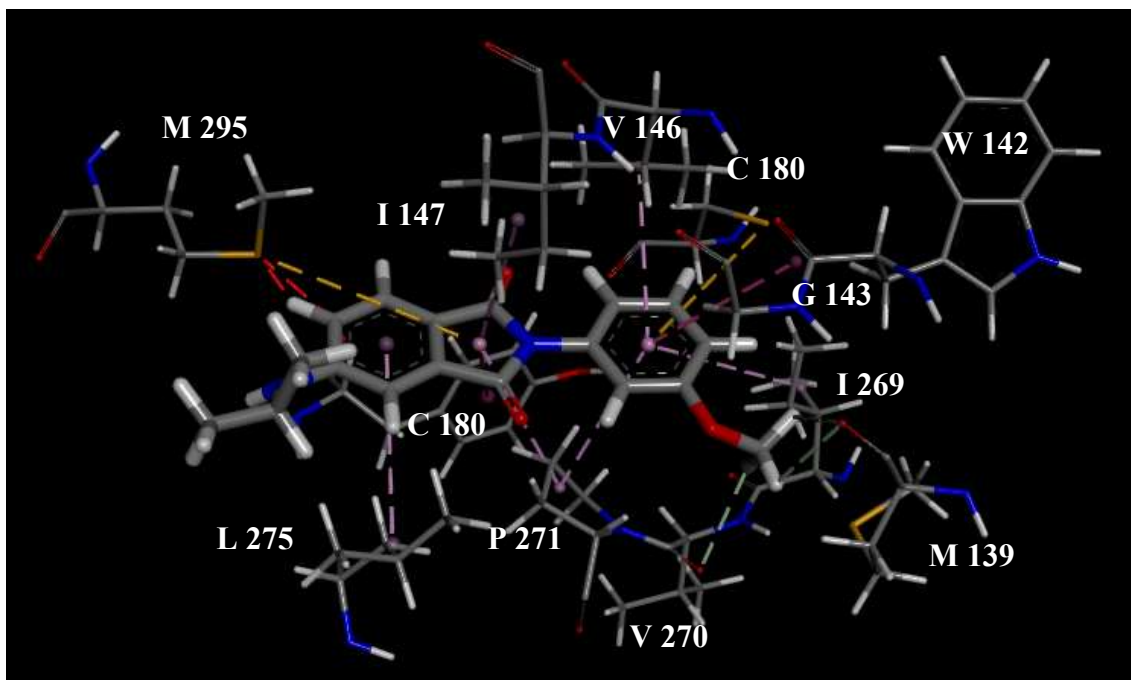


Figura 67: ligante 3-OMe-meta, na sua melhor pose de interação

Como observa-se na figura 42, que mostra o modo de ligação melhor classificado do ligante 3-OMe-meta, a região ftalimídica tem uma interação significativa, do tipo hidrofóbica π -alquil, com a cadeia lateral do resíduo P271 (4,43 Å). Para essa região, há ainda 2 interações desfavoráveis, causadas por impedimento estérico por aproximação do ligante M295. Para o anel aromático em R1, há 3 interações com o sistema π : duas delas do tipo hidrofóbica π -alquil, com as cadeias laterais dos resíduo V146 (4,24 Å) e P271 (4,60 Å) interagem com os elétrons π do anel; e uma delas do tipo empilhamento π -amida, entre o sistema aromático do ligante e a amida formada entre os resíduos W142 e G143 (4,53 Å). Finalmente, há 3 interações do tipo ligação de H não-convencional entre os átomos de H da metila que compõe o substituinte OMe, sendo 2 deles entre dois dos hidrogênios da metila e o átomo de O aceptor de H do resíduo de M139 (2,89 Å e 3,00 Å) e a última interação sendo entre o H sobressalente e o átomo de O da carbonila do resíduo V270 (2,93 Å), que atua como aceptor de H.

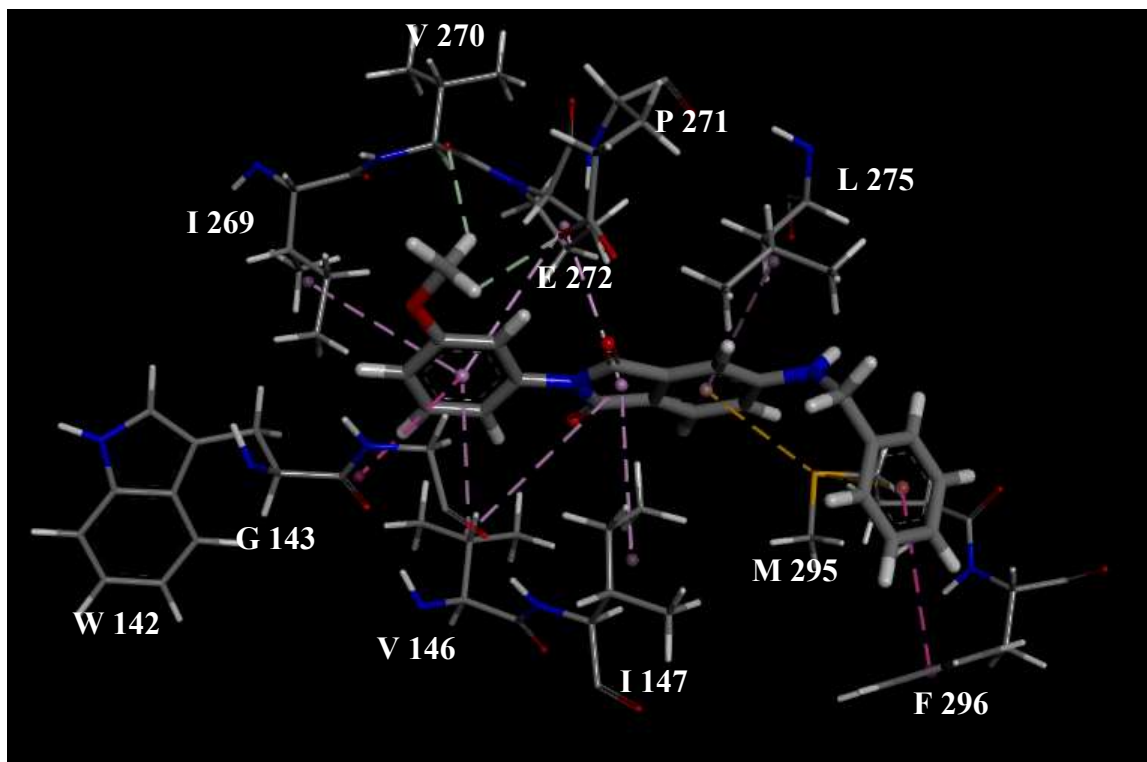


Figura 68: ligante 4-OMe-meta, na sua melhor pose de interação

Como observa-se na figura 43, que mostra o modo de ligação melhor classificado do ligante 4-OMe-meta, a região ftalimídica tem duas interações significativas, uma do tipo hidrofóbica π -alquil, por interação do sistema π do anel com a cadeia lateral do resíduo P271 (4,34 Å) e uma do tipo hidrofóbica π -enxofre, por interação do sistema π do anel com os orbitais d do enxofre da cadeia lateral de M295 (4,24 Å). Para o anel aromático, parte do substituinte R2, há 2 interações, sendo uma do tipo hidrofóbica π -enxofre, por interação do sistema π do anel com os orbitais d do enxofre da cadeia lateral de M295 (3,82 Å) e a outra uma interação do tipo empilhamento T, por interação do sistema π do anel com o sistema π posicionado lateralmente, pertencente ao resíduo de F296 (4,82 Å). Já para o anel aromático em R1, há 3 interações com o sistema π : duas delas do tipo hidrofóbica π -alquil, por interação dos elétrons π com as cadeias laterais dos resíduos V146 (4,27 Å) e P271 (4,77 Å); e uma delas do tipo empilhamento π -amida, entre o sistema aromático do ligante e a amida formada entre os resíduos W142 e G143 (4,08 Å). Finalmente, há 2 interações do tipo ligação de H não-convencional entre os átomos de H da metila que compõe o substituinte OMe, sendo ambas entre um dos hidrogênios da metila e um acceptor de H, que é o átomo de O da carbonila pro caso do resíduo V270 (2,73 Å) e o átomo de O que faz parte do OH da cadeia lateral do resíduo E272 (2,49 Å).

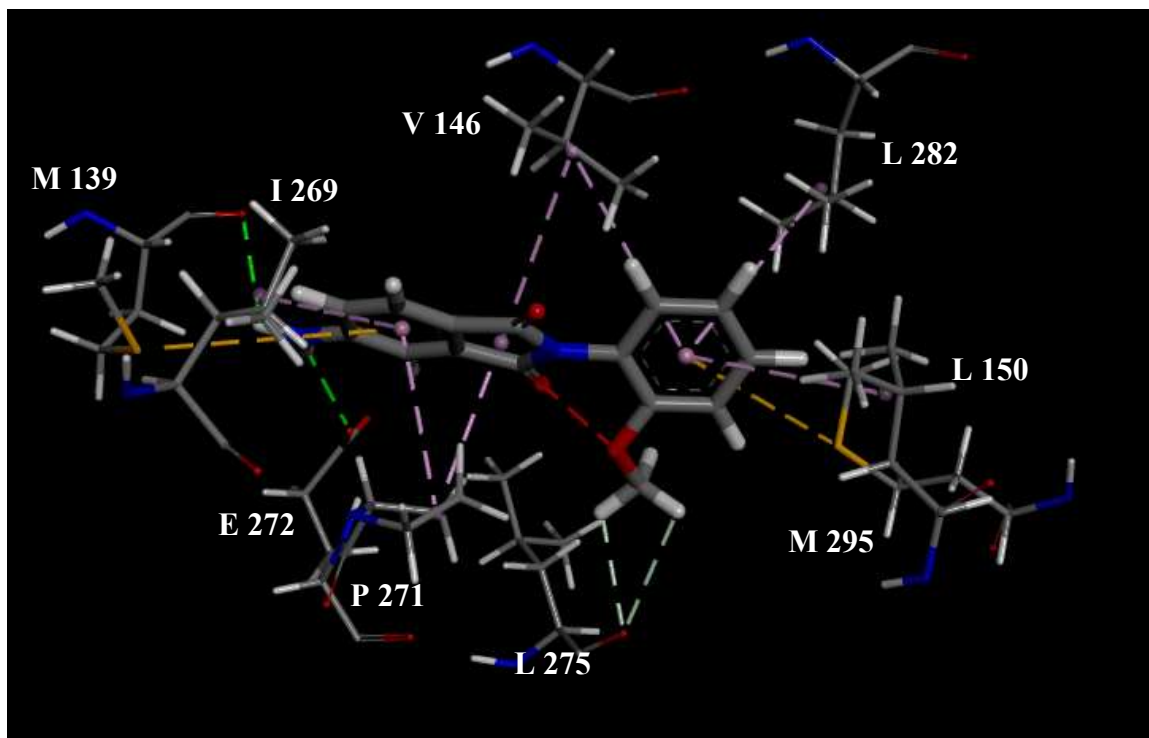


Figura 69: ligante 1-OMe-orto, na sua melhor pose de interação

Como observa-se na figura 44, que mostra o modo de ligação melhor classificado do ligante 1-OMe-orto, a região ftalimídica tem três interações significativas, do tipo hidrofóbica π -alquil, por interação do sistema π do anel com as cadeias laterais dos resíduos P271 (4,14 Å e 3,97 Å) e V146 (4,53 Å). Para os hidrogênios ligados na amida lateral, onde um deles é o substituinte R2, há duas interações do tipo ligação de H convencional, ocorrendo uma entre um dos hidrogênios ligado ao N e o átomo de O da carbonila do resíduo M139 (2,59 Å – aceptor de H) e a outra se formando entre o outro H e o OH presente na cadeia lateral de E272 (2,30 Å – aceptor de H). Para o anel aromático em R1, há 2 interações, uma delas do tipo hidrofóbica π -alquil, por interação do sistema π do anel com as cadeias laterais dos resíduos L282 (4,67 Å) e a outra do tipo hidrofóbica π -enxofre, por interação do sistema π com os orbitais livres do átomo de S da cadeia lateral do resíduo M295 (4,48 Å). Finalmente, há 2 interações do tipo ligação de H não-convencional, entre os átomos de H da metila que compõe o substituinte OMe, sendo ambas entre um dos hidrogênios da metila e um aceptor de H, que nesse caso é um mesmo, o átomo de O da carbonila do resíduo L275 (2,76 Å e 3,08 Å).

2 -OMe-orto

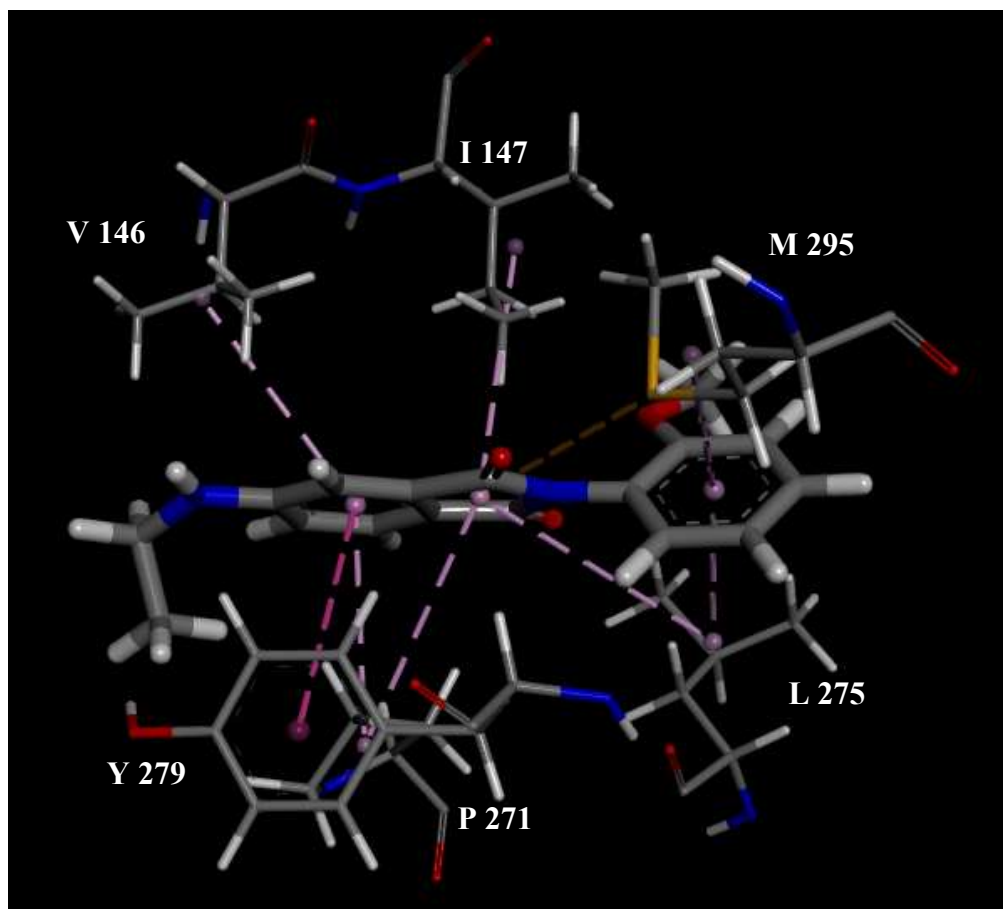


Figura 70: ligante 2-OMe-orto, na sua melhor pose de interação

Como observa-se na figura 45, que mostra o modo de ligação melhor classificado do ligante 2-OMe-orto, a região ftalimídica tem cinco interações significativas, 4 delas do tipo hidrofóbica π -alquil, por interação do sistema π do anel de 6 membros com as cadeias laterais dos resíduos: P271 (4,82 Å e 4,18 Å), V146 (4,42 Å) e I147 (5,00 Å); e uma delas do tipo empilhamento T, por posicionamento, sobre o anel aromático ftalimídico, do anel aromático presente na cadeia lateral do resíduo de Y279 (4,96 Å). Para o anel aromático do substituinte R1, há 1 interação tipo hidrofóbica π -alquil, por interação do sistema π com a cadeia lateral do resíduo L275 (3,89 Å).

3-OMe-orto

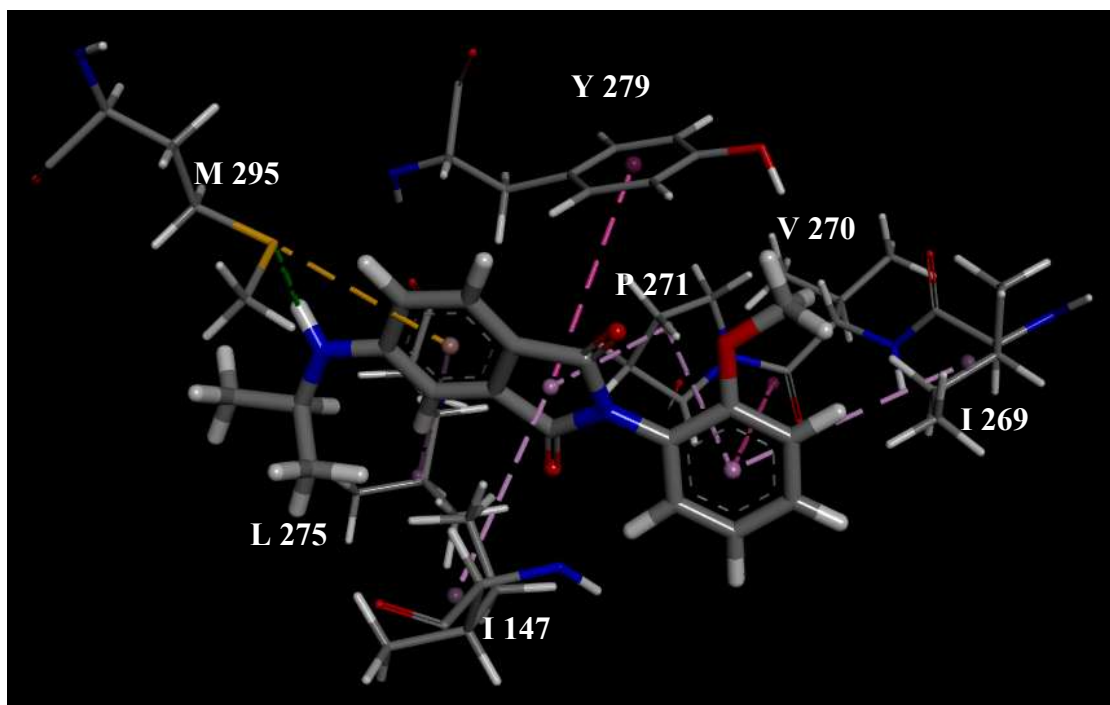


Figura 71: ligante 3-OMe-orto, na sua melhor pose de interação

Como observa-se na figura 46, que mostra o modo de ligação melhor classificado do ligante 3-OMe-orto, a região ftalimídica tem duas interações significativas, uma do tipo hidrofóbica π -alquil, por interação do sistema π do anel aromático com a cadeia lateral do resíduo P271 (4,19 Å), e a outra do tipo hidrofóbica π -enxofre, por interação do sistema π do anel com os orbitais livres do S da cadeia lateral do resíduo de M295 (4,21 Å). Para o anel aromático do substituinte R1, há 2 interações, uma delas do tipo hidrofóbica π -alquil, por interação do sistema π com a cadeia lateral do resíduo P271 (4,26 Å), e uma delas do tipo empilhamento π -amida, por interação do sistema π do anel com a amida formada entre os resíduos V270 e P271 (4,49 Å). Para a amina ligada ao substituinte R2, há uma interação do tipo ligação de H entre o H da amina e os orbitais d do enxofre da cadeia lateral de M295 (2,70 Å – acceptor de elétrons).

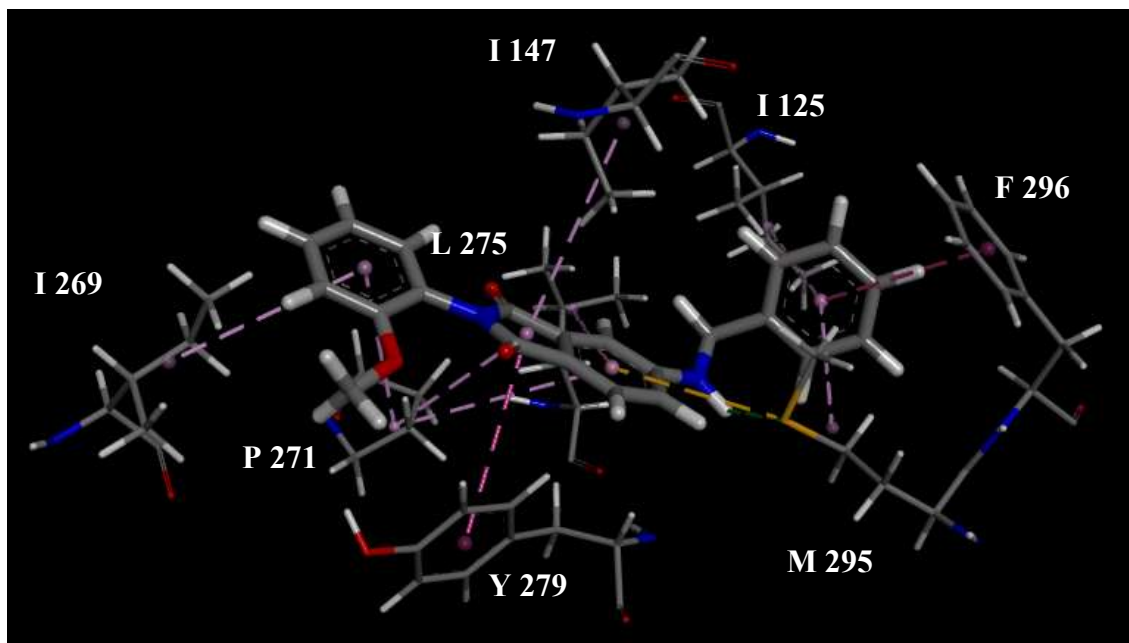


Figura 72: ligante 4-OMe-orto, na sua melhor pose de interação

Como observa-se na figura 47, que mostra o modo de ligação melhor classificado do ligante 4-OMe-orto, a região ftalimídica tem duas interações significativas, uma do tipo hidrofóbica π -alquil, por interação do sistema π do anel aromático com a cadeia lateral do resíduo P271 (4,15 Å), e a outra do tipo hidrofóbica π -enxofre, por interação do sistema π do anel com os orbitais livres do S da cadeia lateral do resíduo de M295 (4,23 Å). Para o anel aromático do substituinte R1, há uma interação, do tipo hidrofóbica π -alquil, por interação do sistema π com a cadeia lateral do resíduo P271 (4,31 Å). Para a amina ligada ao substituinte R2, há uma interação do tipo ligação de H entre o H da amina e os orbitais d do enxofre da cadeia lateral de M295 (2,70 Å – aceitor de elétrons); também ligado a amina temo o anel aromático do substituinte R2, que faz 2 interações, uma delas do tipo hidrofóbica π -alquil, por interação do sistema π do anel aromático com a cadeia lateral do resíduo M295 (4,19 Å), e outra do tipo empilhamento T, por interação do sistema π do anel com o sistema π posicionado lateralmente, pertencente ao resíduo de F296 (4,94 Å).

1-OMe-para

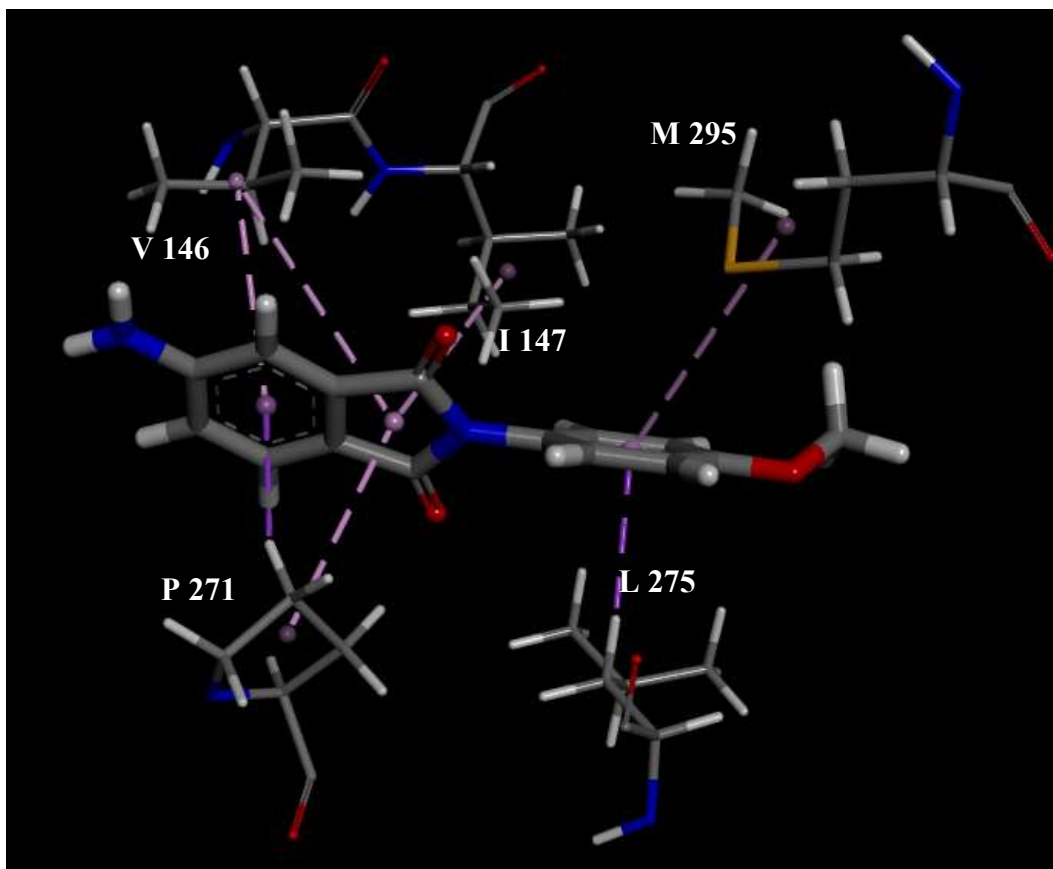


Figura 73: ligante 1-OMe-para, na sua melhor pose de interação

Como observa-se na figura 48, que mostra o modo de ligação melhor classificado do ligante 1-OMe-para, a região ftalimídica tem três interações significativas, duas do tipo hidrofóbica π -alquil, por interação do sistema π do anel com as cadeias laterais dos resíduos P271 (4,19 Å) e V146 (4,08 Å) e uma do tipo hidrofóbica π -sigma, por interação do sistema π do anel com a ligação sigma CH da cadeia lateral do resíduo de P271 (2,65 Å). Para o anel aromático em R1, há 3 interações, uma delas do tipo hidrofóbica π -alquil, por interação do sistema π do anel com as cadeias laterais dos resíduos L282 (4,67 Å); a segunda do tipo hidrofóbica π -enxofre, por interação do sistema pi com os orbitais livres do átomo de S da cadeia lateral do resíduo M295 (4,48 Å); e finalmente, há uma interação do tipo hidrofóbica π -sigma por interação do sistema π desse mesmo anel com a ligação sigma CH da cadeia lateral do resíduo de L275 (2,85 Å).

2-OMe-para

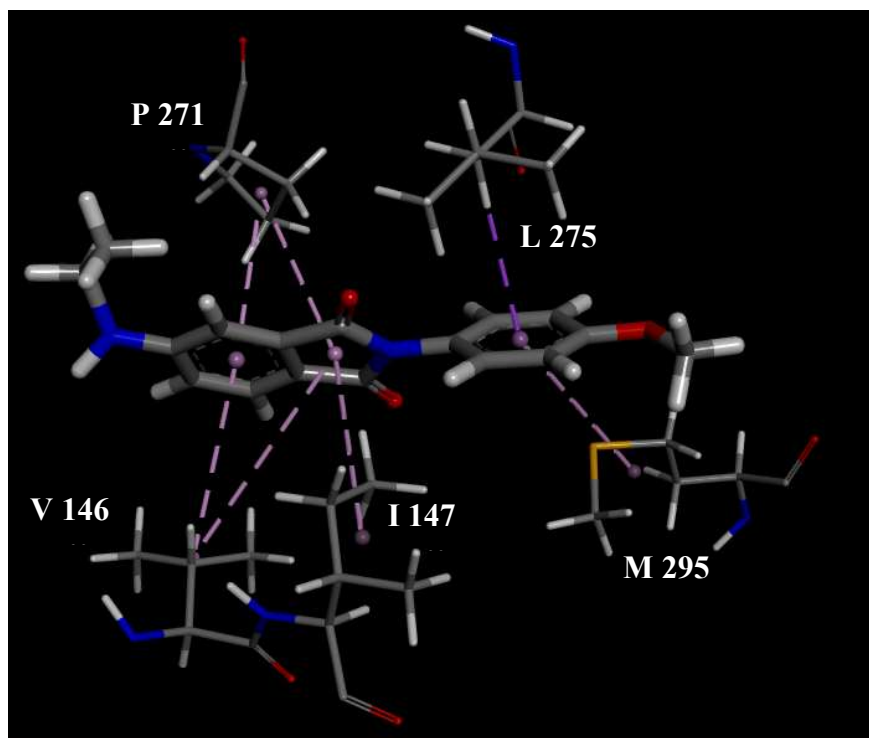


Figura 74: ligante 2-OMe-para, na sua melhor pose de interação

Como observa-se na figura 49, que mostra o modo de ligação melhor classificado do ligante 2-OMe-para, a região ftalimídica tem três interações significativas, do tipo hidrofóbica π -alquil, por interação do sistema π do anel com as cadeias laterais dos resíduos P271 (4,31 Å e 3,95 Å) e V146 (4,45 Å). Para o anel aromático em R1, há uma interação, do tipo hidrofóbica π -sigma, por interação do sistema π do anel com a ligação sigma CH da cadeia lateral do resíduo de L275 (2,93 Å).

3-OMe-para

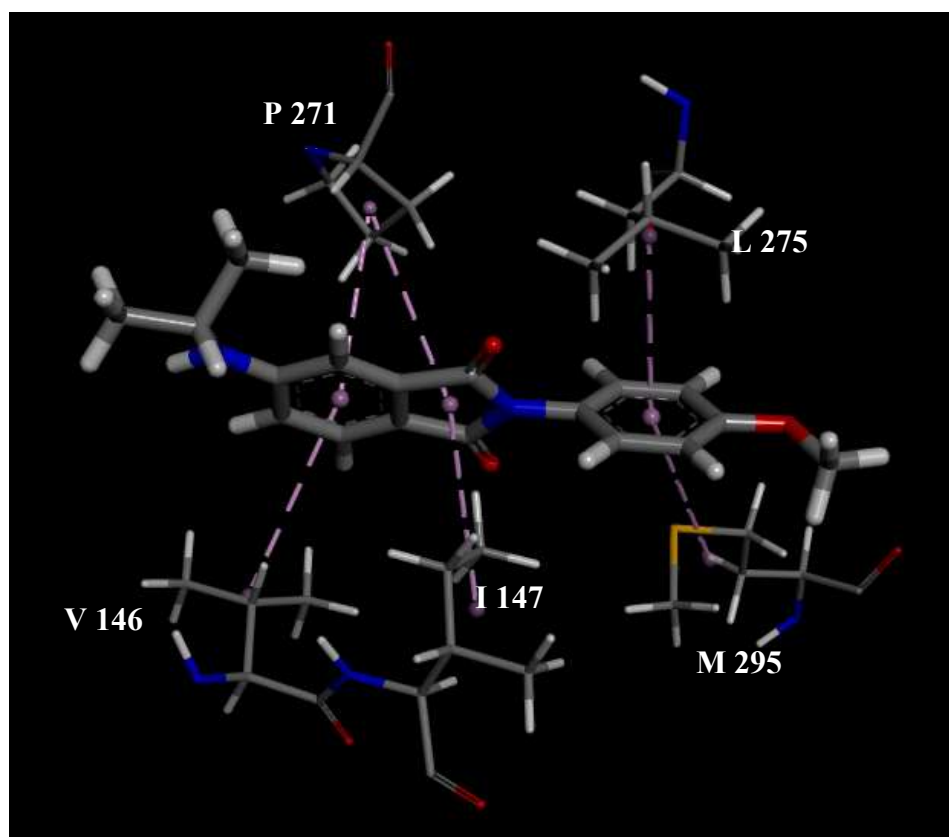


Figura 75: ligante 3-OMe-para, na sua melhor pose de interação

Como observa-se na figura 50, que mostra o modo de ligação melhor classificado do ligante 3-OMe-para, a região ftalimídica tem três interações significativas, do tipo hidrofóbica π -alquil, por interação do sistema π do anel com as cadeias laterais dos resíduos P271 (4,02 Å e 4,42 Å) e V146 (4,34 Å). Para o anel aromático em R1, há duas interações, ambas do tipo hidrofóbica π -alquil, por interação do sistema π do anel com as cadeias laterais dos resíduos de L275 (2,93 Å) e M295 (4,93 Å).

4-OMe-para

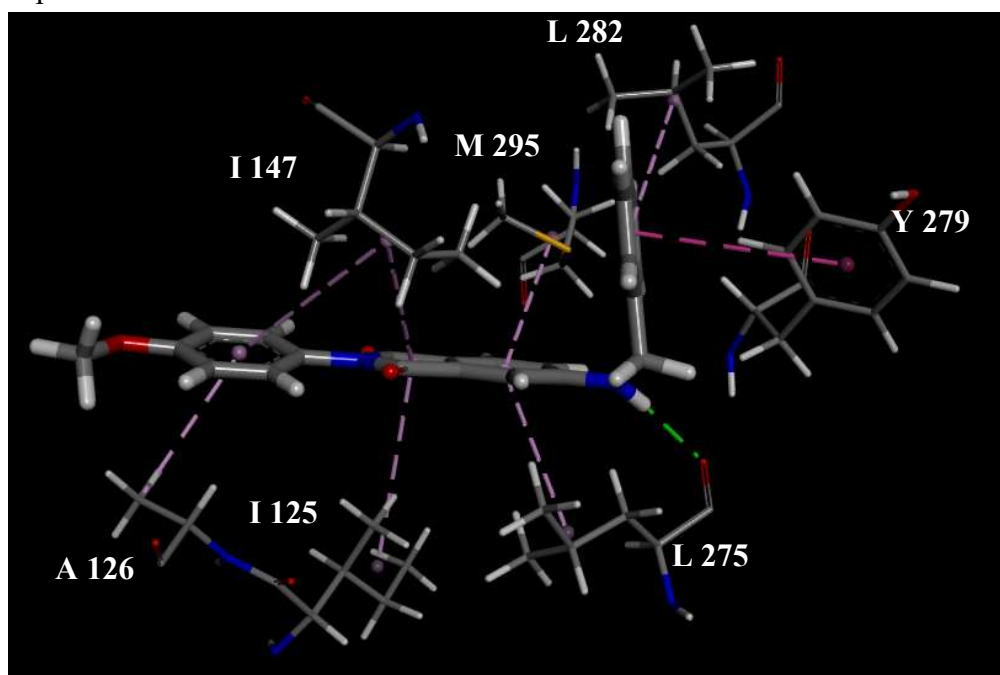


Figura 76: ligante 4-OMe-para, na sua melhor pose de interação

Como observa-se na figura 51, que mostra o modo de ligação melhor classificado do ligante 4-OMe-para, a região ftalimídica tem três interações significativas, do tipo hidrofóbica π -alquil, por interação do sistema π do anel com as cadeias laterais dos resíduos L275 (4,56 Å), I147 (4,88 Å) e M295 (4,77 Å). Para o anel aromático em R1, há uma interação, do tipo hidrofóbica π -alquil, por interação do sistema π do anel com a cadeia lateral do resíduo de A126 (4,09 Å). Já para o anel aromático componente do substituinte R2, há também uma interação, agora tipo empilhamento T, por interação do sistema π do anel com o sistema π posicionado lateralmente, pertencente ao resíduo de Y279 (4,92 Å).

APÊNDICE C – TABELA DE INTERAÇÕES COMPLETA

Nº de Interações	Ligante	Resíduos de aminoácidos presentes, segundo dados do PDBsum									
		HIS 181	GLU 272	ILE 125	ILE 147	TYR 279	VAL 146	PRO 271	CYS 180	MET 139	LEU 275
6	CF3_META_1						+5				
6	CF3_META_2A				+5		+5				
5	CF3_META_2B			+5	+5						+5
10	CF3_META_3					+5					
7	CF3_META_4										+5
6	CF3_ORTO_1										
7	CF3_ORTO_2										
7	CF3_ORTO_3										
8	CF3_ORTO_4			+5							
8	CF3_PARA_1				+5		+5				
9	CF3_PARA_2A				+5		+5				
8	CF3_PARA_2B				+5						
8	CF3_PARA_3				+5		+5				
9	CF3_PARA_4			+5	+5						
10	N_META_1										
8	N_META_2				+5		+5	+5			+5
7	N_META_3				+5		+5	+5			+5
9	N_META_4			+5	+5		+5	+5			+5
9	N_ORTO_1										
6	N_ORTO_2				+5		+5	+5			+5
6	N_ORTO_3				+5		+5				+5
8	N_ORTO_4			+5	+5		5				+5

10	N_PARA_1												
7	N_PARA_2				+5		+5	+5			+5		+5
6	N_PARA_3				+5		+5	+5			+5		+5
8	N_PARA_4				+5		+5	+5			+5		+5
6	NITRO_META_1				+5			+5			+5		
4	NITRO_META_2				+5			+5					
11	NITRO_META_3									+5			
12	NITRO_META_4				+5	+5					+5		
8	NITRO_ORTO_1					+5							
5	NITRO_ORTO_2												
4	NITRO_ORTO_3												
6	NITRO_ORTO_4												
4	NITRO_PARA_1				+5			+5					
5	NITRO_PARA_2				+5			+5					
6	NITRO_PARA_3B												
6	NITRO_PARA_3A				+5			+5					
7	NITRO_PARA_4					+5							
8	OME_META_1												
4	OME_META_2				+5			+5					
7	OME_META_3				+5	+5					+5		
9	OME_META_4				+5			+5					
9	OME_ORTO_1							+5					
6	OME_ORTO_2												
5	OME_ORTO_3				+5	+5							
6	OME_ORTO_4				+5	+5					+5		
4	OME_PARA_1				+5			+5					

4	OME_PARA_2				+5		+5					
5	OME_PARA_3				+5							
6	OME_PARA_4			+5	+5							

Nº de Interações	Ligante	Resíduos de aminoácidos presentes, segundo dados do PDBsum									Interações intramoleculares	
		GLY 143	PHE 278	MET 295	ILE 269	PHE 296	ALA 126	PHE 129	LEU 282	TRP 142		
6	CF3_META_1											
6	CF3_META_2A			+5								
5	CF3_META_2B			+5								
10	CF3_META_3											
7	CF3_META_4					+5						
6	CF3_ORTO_1						+5	+5			F-C (=O)	F-C (=O)
7	CF3_ORTO_2						+5	+5			F-C (=O)	F-C (=O)
7	CF3_ORTO_3			+5			+5	+5			F-C (=O)	F-C (=O)
8	CF3_ORTO_4										F-C (=O)	F-C (=O)
8	CF3_PARA_1			+5								
9	CF3_PARA_2A											
8	CF3_PARA_2B											
8	CF3_PARA_3											
9	CF3_PARA_4								+5			
10	N_META_1										C=O - H (PIRIDINA)	
8	N_META_2				+5						C=O - H (PIRIDINA)	
7	N_META_3				+5						C=O - H (PIRIDINA)	
9	N_META_4				+5						C=O - H (PIRIDINA)	

9	N_ORTO_1												
6	N_ORTO_2						+5						
6	N_ORTO_3						+5						
8	N_ORTO_4						+5						
10	N_PARA_1												
7	N_PARA_2						+ 5						
6	N_PARA_3						+5						
8	N_PARA_4						+5						
6	NITRO_META_1						+5						
4	NITRO_META_2												
11	NITRO_META_3												
12	NITRO_META_4						+5	+5					
8	NITRO_ORTO_1												
5	NITRO_ORTO_2												
4	NITRO_ORTO_3												
6	NITRO_ORTO_4												
4	NITRO_PARA_1						+5						
5	NITRO_PARA_2						+5						
6	NITRO_PARA_3B						+5						
6	NITRO_PARA_3A						+5						
7	NITRO_PARA_4												
8	OME_META_1												
4	OME_META_2						+5						
7	OME_META_3						+5	+5					
9	OME_META_4						+5						

9	OME_ORTO_1					+5						C=O // O-CH3
6	OME_ORTO_2			+5	+5							
5	OME_ORTO_3					+5						
6	OME_ORTO_4					+5						
4	OME_PARA_1			+5								
4	OME_PARA_2			+5								
5	OME_PARA_3											
6	OME_PARA_4								+5			

O nome dado a cada conjunto ligante-macromolécula segue a seguinte estrutura de nomenclatura: hétéroátomo ou grupo ligante do substituinte R¹ (conforme a Figura 1), posição deste átomo/ligante no ciclo, natureza do ligante R² (Figura 1; 1-H, 2-Et, 3-iPr, 4-Bz).

Para as interações detectadas mas que se apresentavam por distâncias maiores que 5 Å, foi feita a sinalização na tabela mas estas não foram consideradas como relevantes, segundo BISSANTZ et. al (2010). A tabela contida neste apêndice está dividida em duas partes; Suas as cores e dados indicados no conteúdo são referentes aos tipos de interação observados entre partes dos ligantes e cada um dos resíduos de aminoácidos relevantes da macromolécula segundo classificação do PDBsum (não estão inclusos na tabela os resíduos dos seguintes aminoácidos: ILE 122, LEU 130 e PHE 179; Pois não foram observadas interações com estes resíduos) podendo ser relacionadas com o tipo de interação de acordo com a legenda:

Cor/Símbolo										+5
Legenda	π -alquil	Empilhamento T	π -sigma	π -enxofre	Ligação de H - doador π	Ligação de H - carbono	Ligação de H	Interação H-halogênio	Empilhamento π -amina	Interação ultrapassa o limite de 5 Å

APÊNDICE D – RELAÇÃO DE ESPECTROS DE RMN (^1H E ^{13}C)

Para cada um dos componentes dos produtos finais, serão analisados os espectros de ^1H e ^{13}C , nesta ordem, sendo feita a identificação dos sinais relevantes e aqueles referentes a resíduos presentes na amostra, indicando seu deslocamento químico e sua multiplicidade aparente. Cada um dos compostos foram nomeados segundo o critério: número referente a posição do heteroátomo ou substituinte ligado ao anel de R^1 (segundo a figura 1), o heteroátomo ou substituinte em questão, o número 4 e a função presente no carbono 4.

3Npyr4NO₂

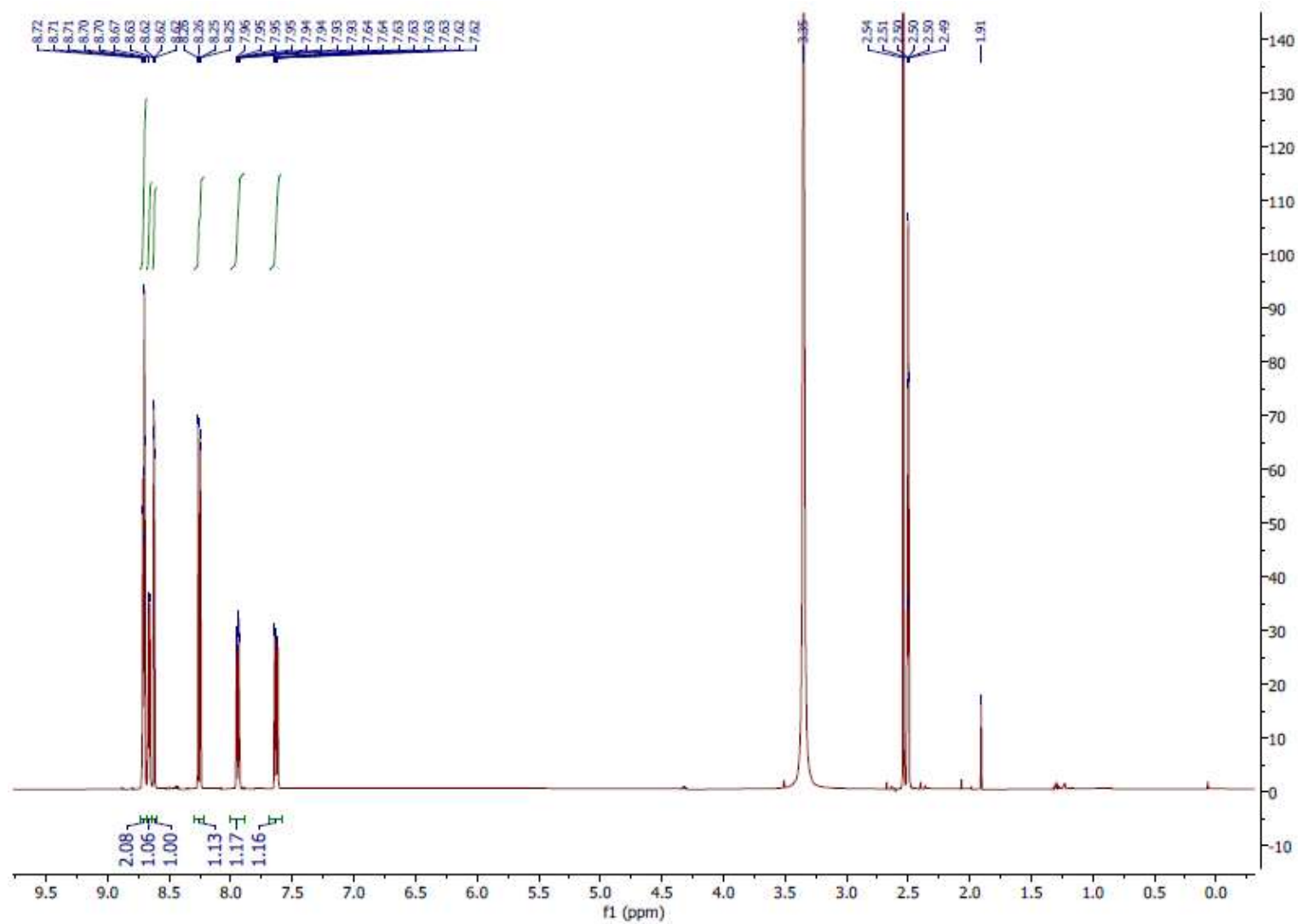


Figura 77: espectro de ¹H para a substância 3Npyr4NO₂

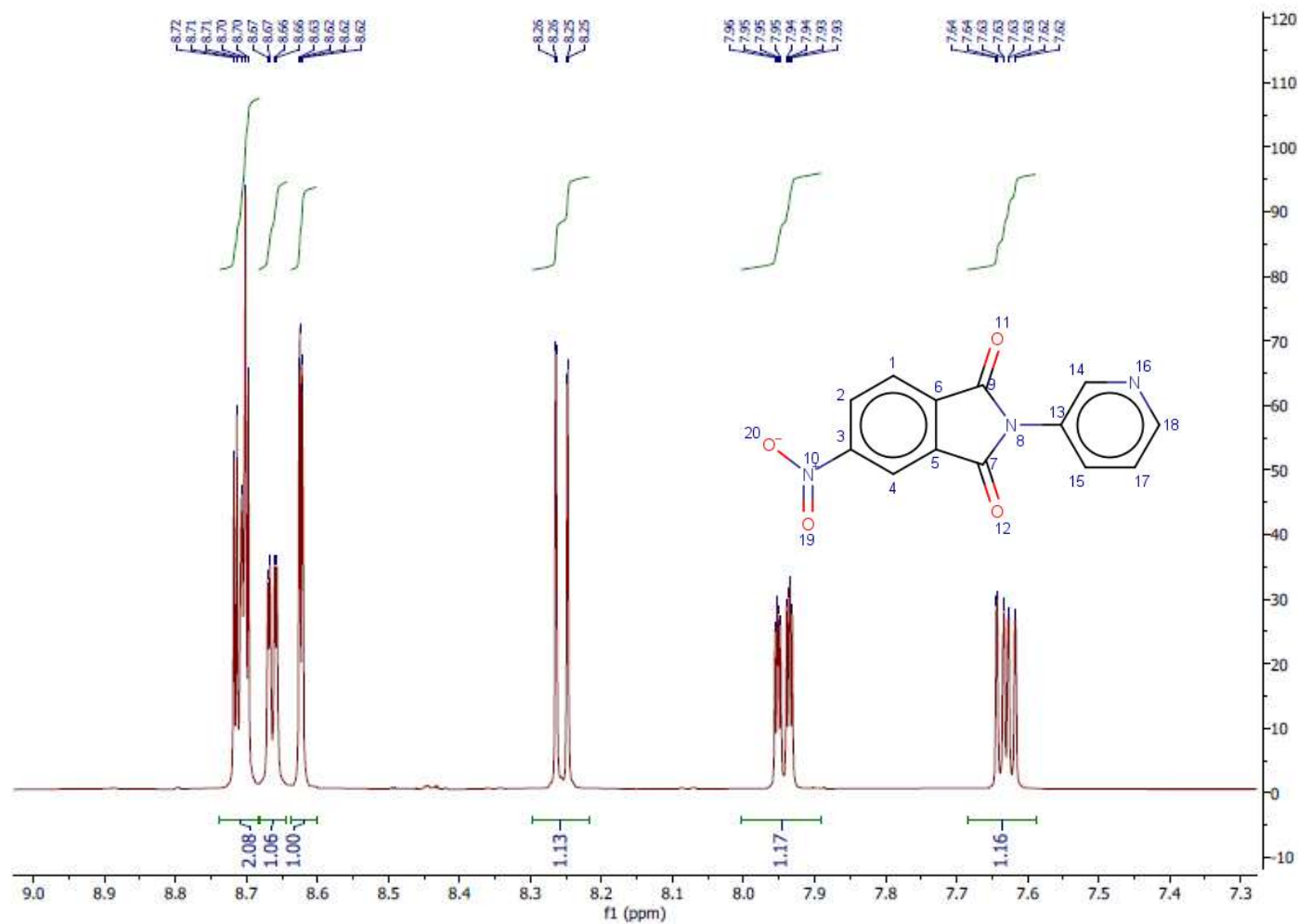


Figura 78: destaque do espectro de ^1H para a substância 3Npyr4NO₂

Atribuição dos hidrogênios, segundo os átomos que estão ligados de acordo com a numeração da imagem: 1 – 8,25 ppm, d; 2 – 8,62 ppm, dd; 4 – 8,70 ppm, m; 14 – 8,70 ppm, m; 17 – 8,67 ppm, dd; 18 – 7,95 ppm, ddd; 15 – 7,63 ppm, dd; Sinal em 3,35 ppm corresponde ao H de HDO de resíduo; Sinal em 2,50 ppm corresponde ao solvente deuterado DMSO (D₆); Sinal em 1,91 ppm corresponde a resíduo de HAc;

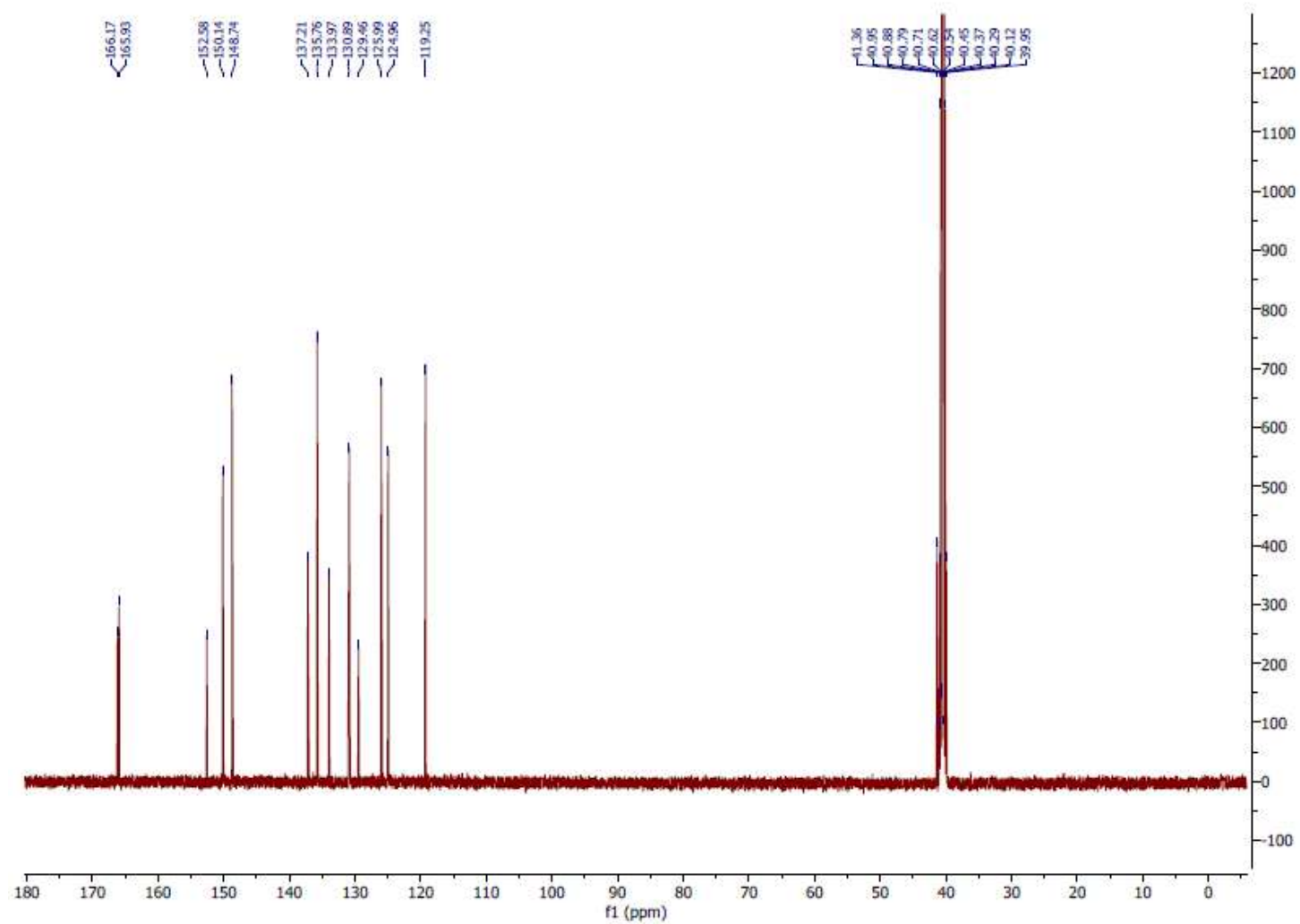


Figura 79: espectro de ^{13}C para a substância 3Npyr4NO₂

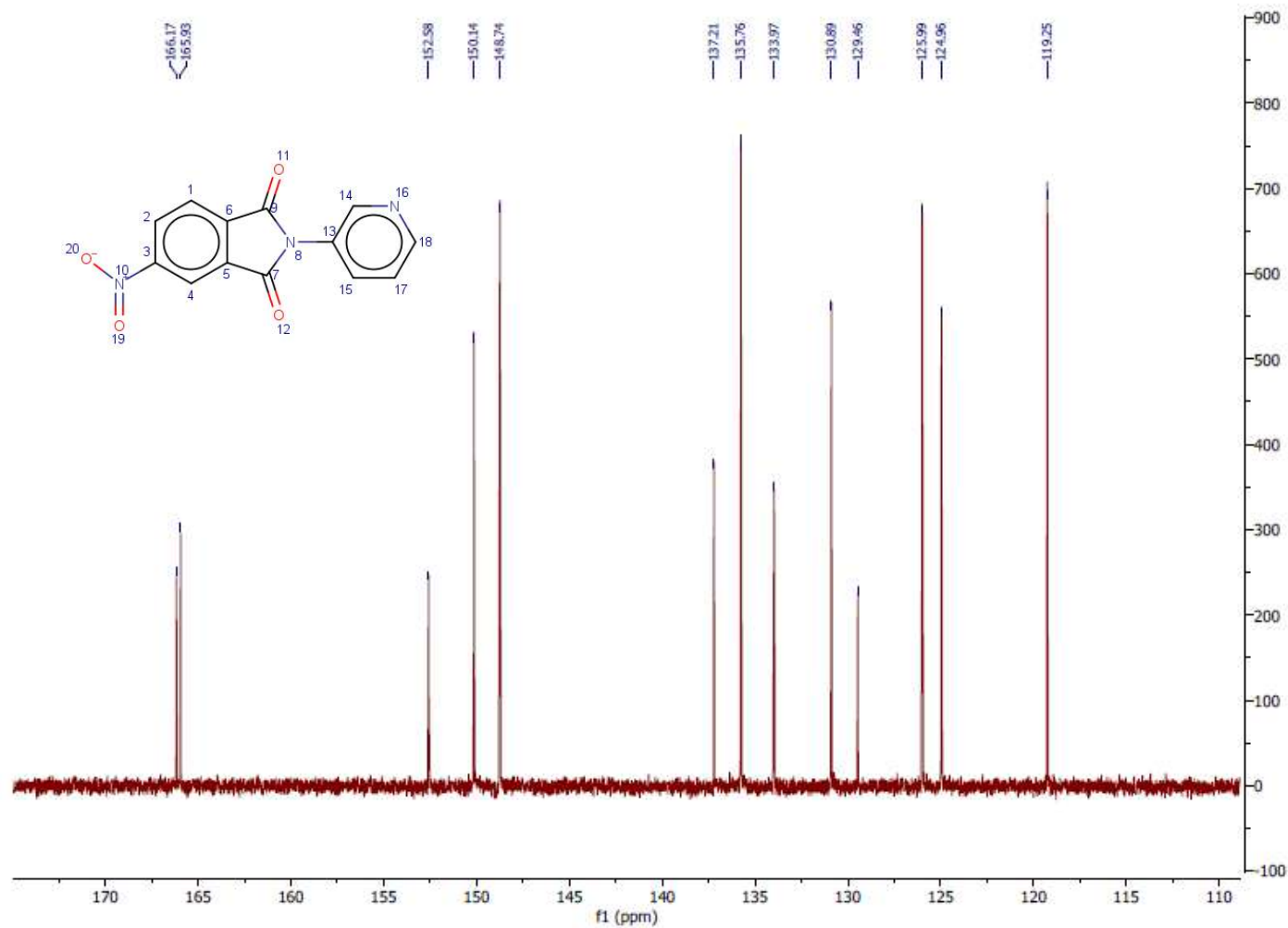


Figura 80: destaque do espectro de ^{13}C para a substância 3Npyr4NO₂

Atribuição dos carbonos segundo a numeração da imagem: 119,25 ppm - 4; 124,96 ppm - 15; 125,99 ppm - 17 ; 129,46 ppm - 1; 130,89 ppm - 13; 133,97 ppm - 2; 135,76 ppm - 6; 133,21 ppm - 5; 148,74 ppm - 14; 150,14 ppm - 18; 152,58 ppm - 3; 165,93 ppm - 9; 166,17 ppm - 7. O sinal em 40,45 ppm corresponde ao solvente deuterado DMSO (D₆);

3Npyr4NH₂

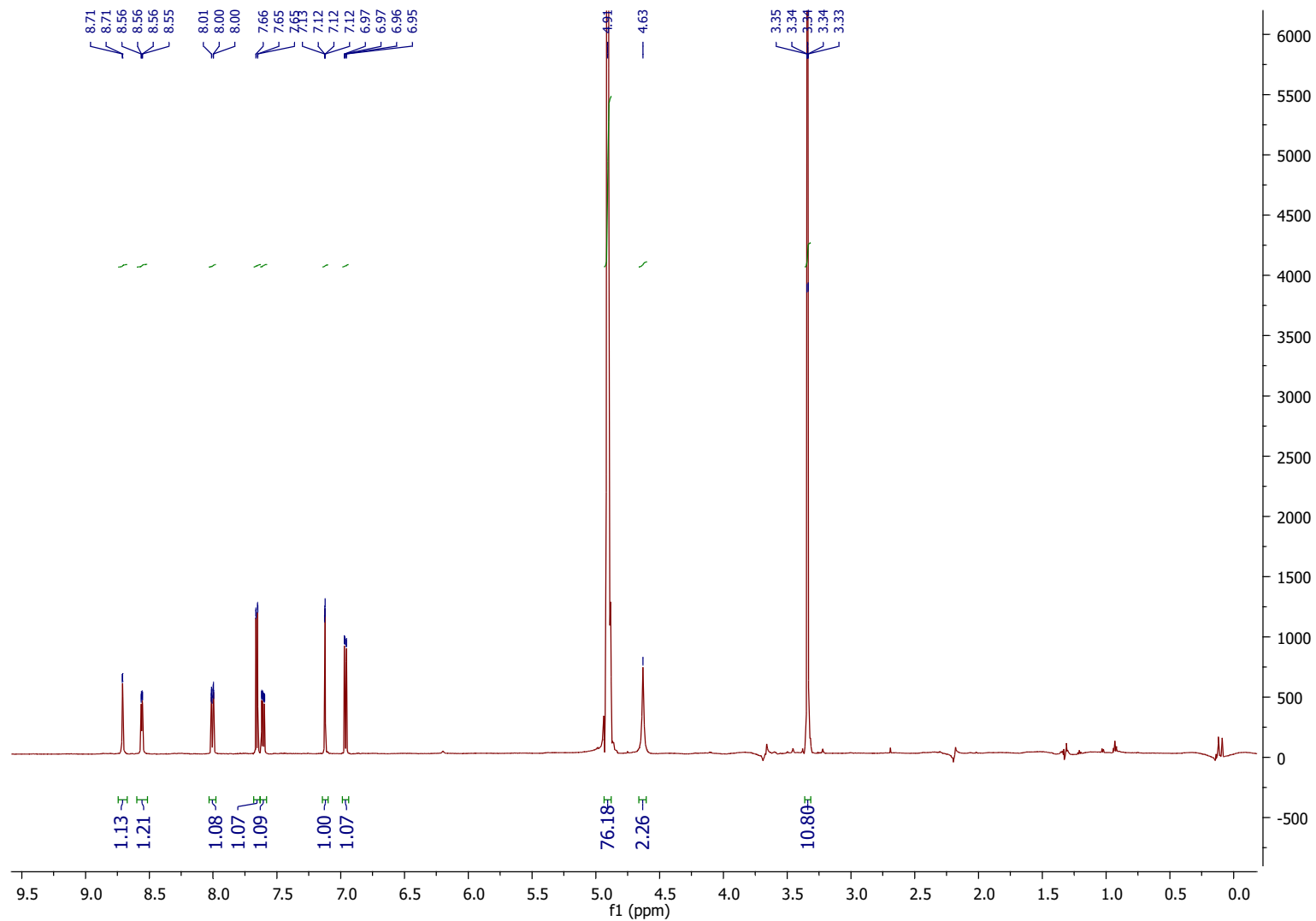


Figura 81: espectro de ¹H para a substância 3Npyr4NH₂

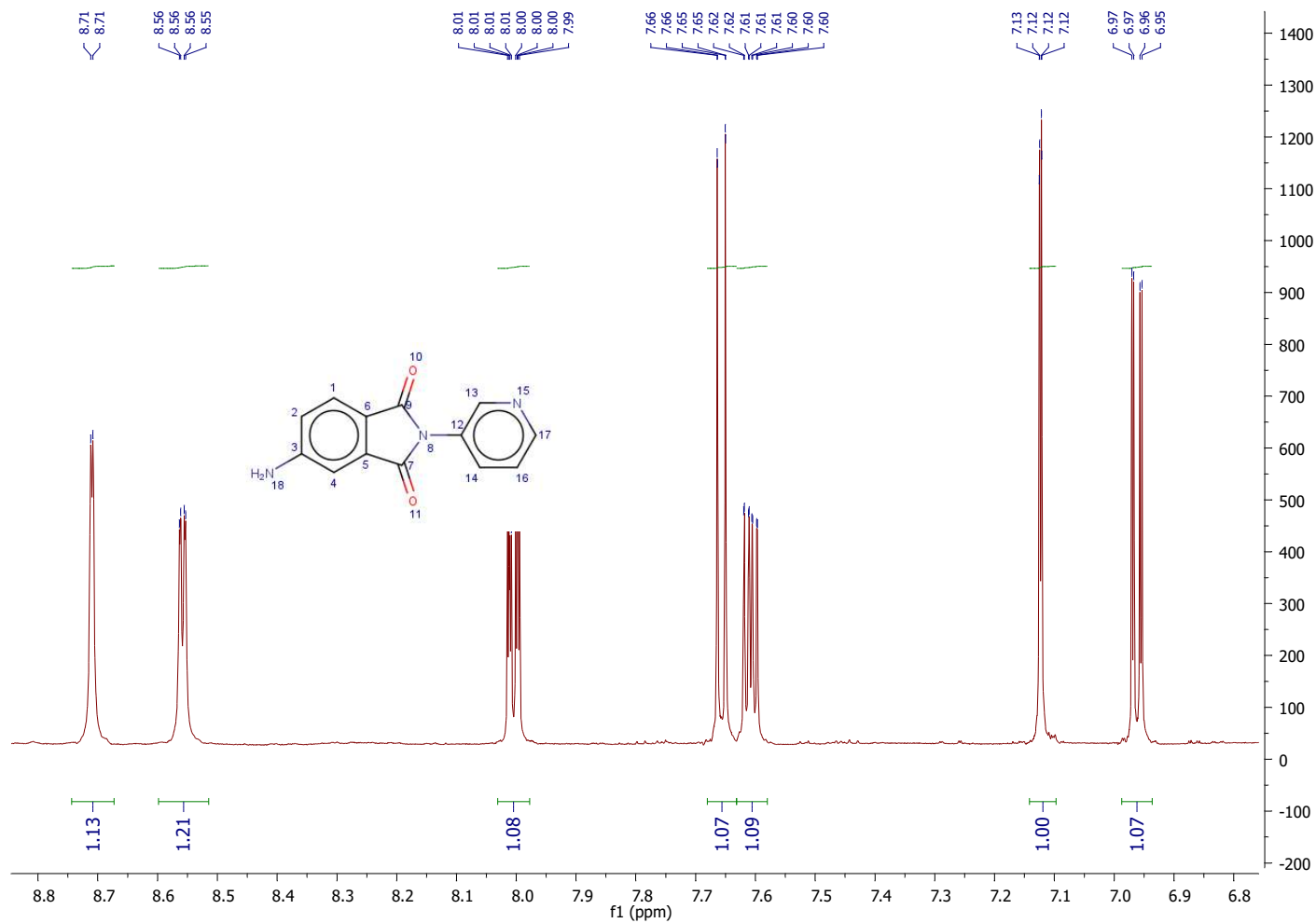


Figura 82: destaque do espectro de ¹H para a substância 3Npyr4NH₂

Atribuição dos hidrogênios, segundo os átomos que estão ligados de acordo com a numeração da imagem: 4,63 ppm, s – 18; 6,97 ppm, dd – 2; 7,12 ppm, dd – 4; 7,61 ppm, dd – 16; 7,65 ppm, dd- 17; 8,01 ppm, dt – 14; 8,56 ppm, dd – 1; 8,71 ppm, d – 13; Sinal em 4,91 ppm corresponde ao H de HDO de resíduo; Sinal em 3,34 ppm corresponde ao solvente deuterado MeOH (D₄);

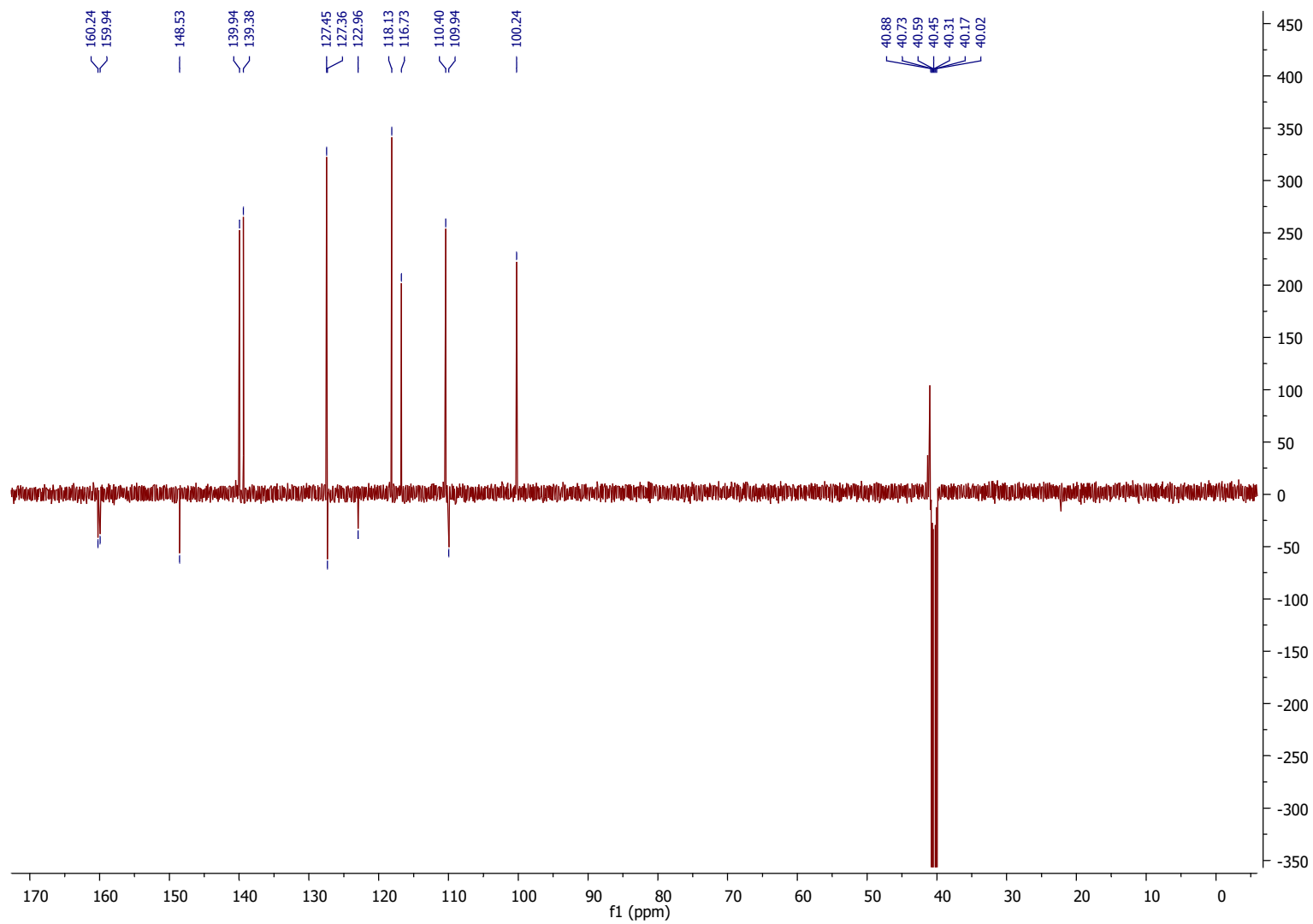


Figura 83: espectro de ¹³C para a substância 3Npyr4NH₂

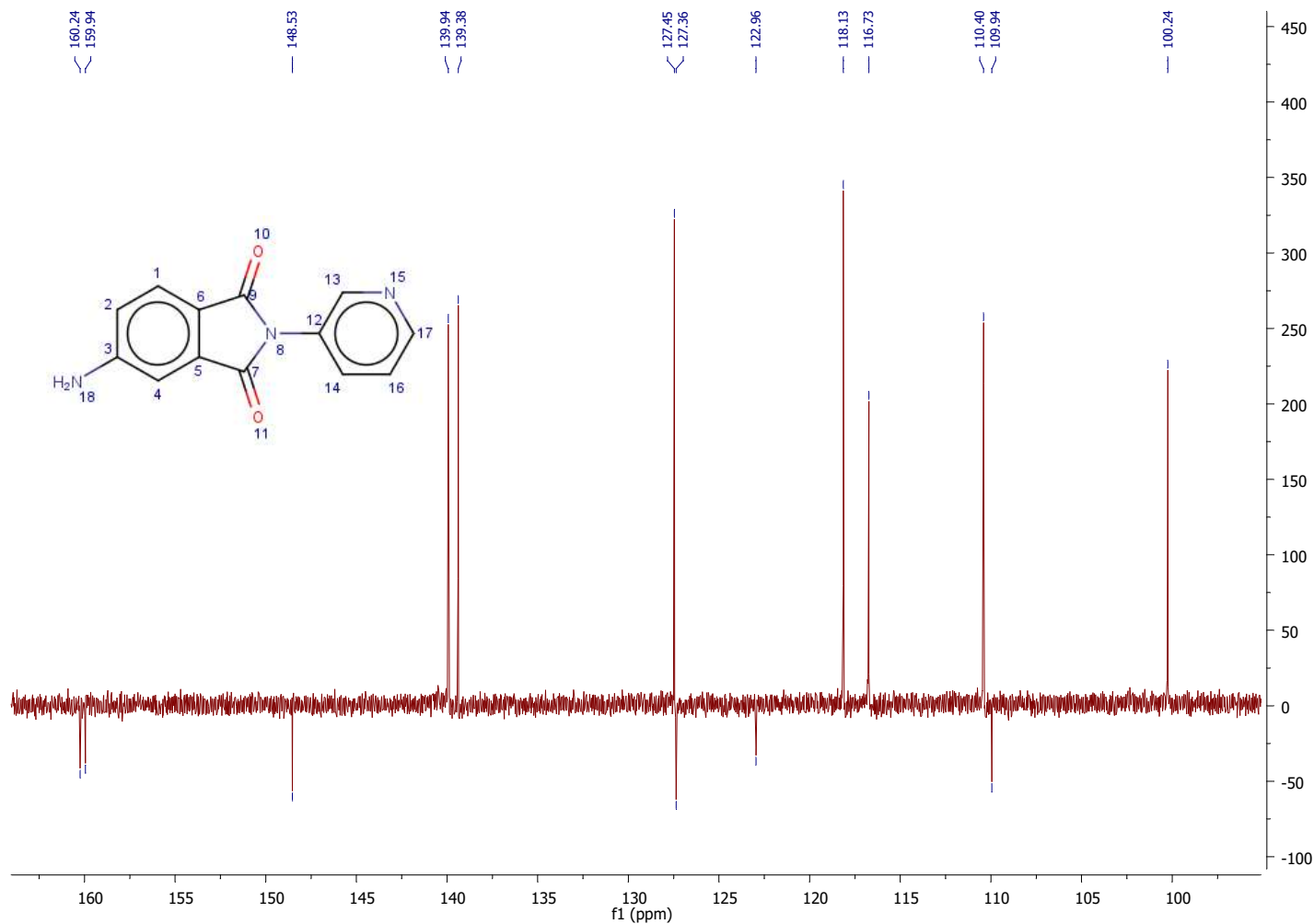


Figura 84: destaque do espectro de ¹³C para a substância 3Npyr4NH₂

Atribuição dos carbonos segundo a numeração da imagem: 100,24 ppm – 4; 109,94 ppm – 12; 110,40 ppm – 2; 116,73 ppm – 14; 118,13 ppm – 16; 122,96 ppm – 5; 127,36 ppm – 6; 127,45 ppm – 1; 139,38 ppm – 17; 139,94 ppm – 13; 148,53 ppm – 3; 159,94 ppm – 9; 160,24 ppm – 7; O sinal em 40,45 ppm corresponde ao solvente deuterado DMSO (D₆);

2Npyr4NO₂

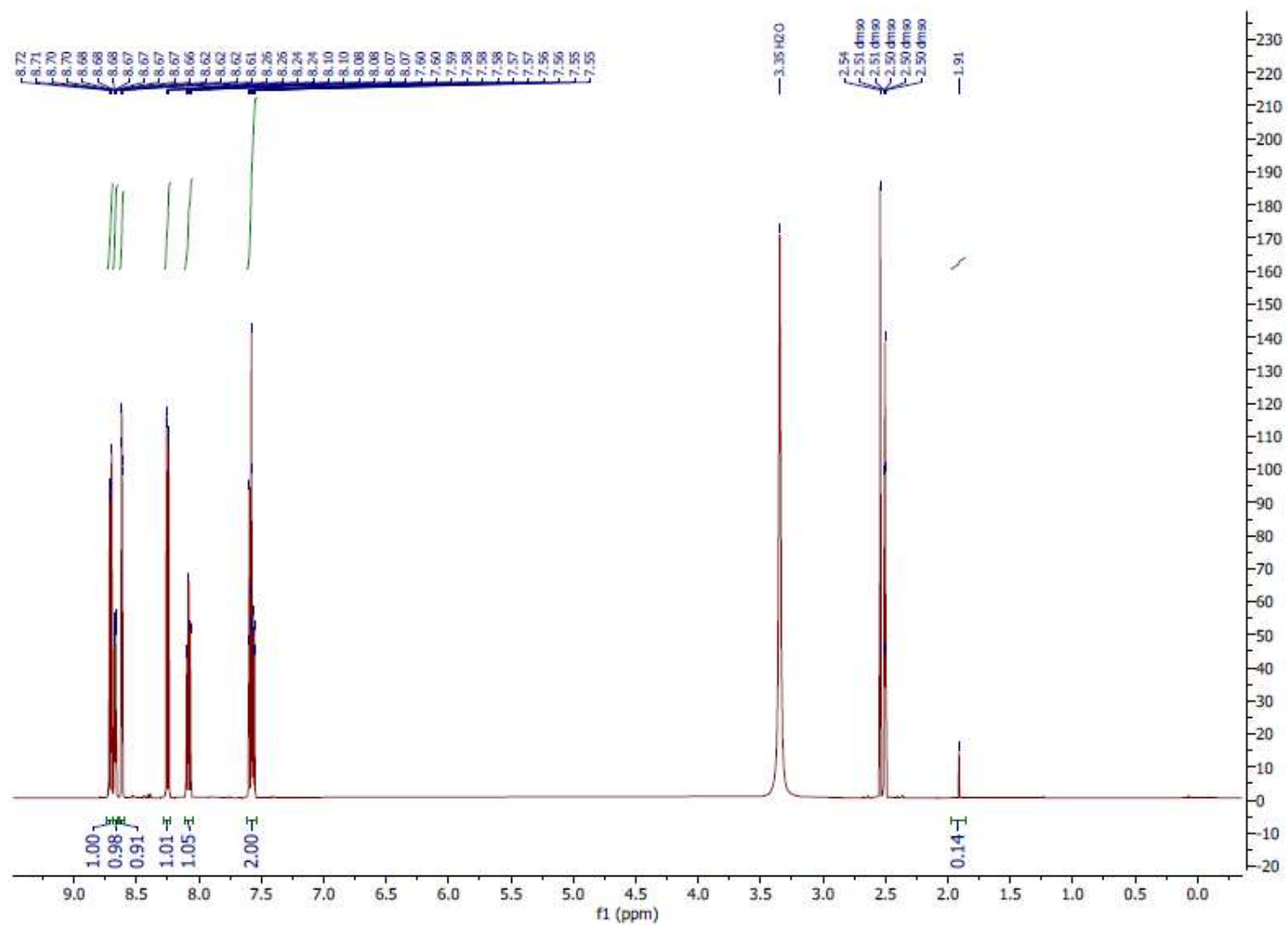


Figura 85: espectro de ¹H para a substância 2Npyr4NO₂

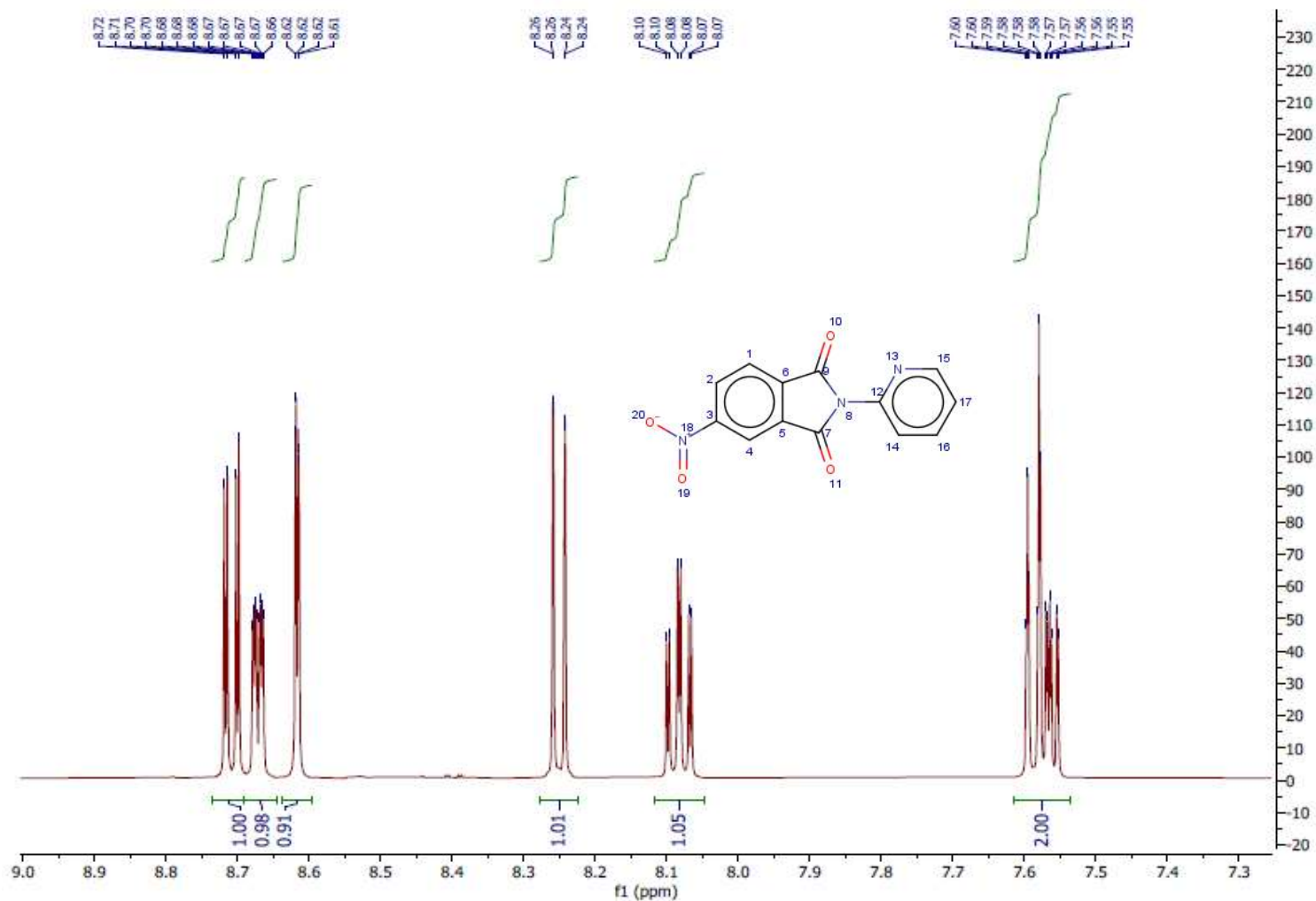


Figura 86: destaque do espectro de ¹H para a substância 2Npyr4NO₂

Atribuição dos hidrogênios, segundo os átomos que estão ligados de acordo com a numeração da imagem: 7,57 ppm, m – 17,14; 8,08 ppm, td – 16; 8,25 ppm, dd – 1; 8,62 ppm, dd – 15; 8,67 ppm, ddd – 2; 8,70 ppm, dd – 4; Sinal em 3,35 ppm corresponde ao H de HDO de resíduo; Sinal em 2,50 ppm corresponde ao solvente deuterado DMSO (D₆);

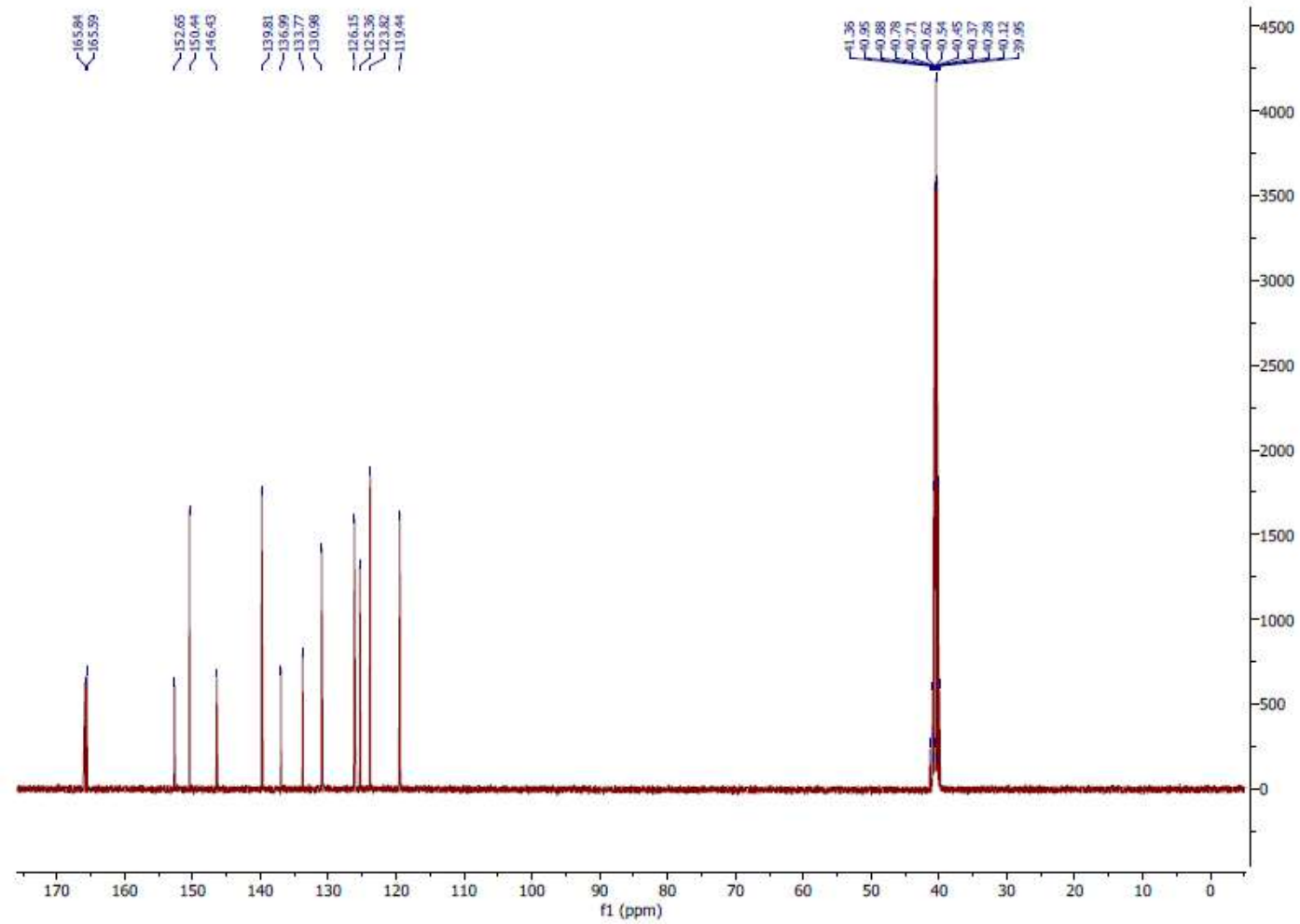


Figura 87: espectro de ^{13}C para a substância 2Npyr4NO₂

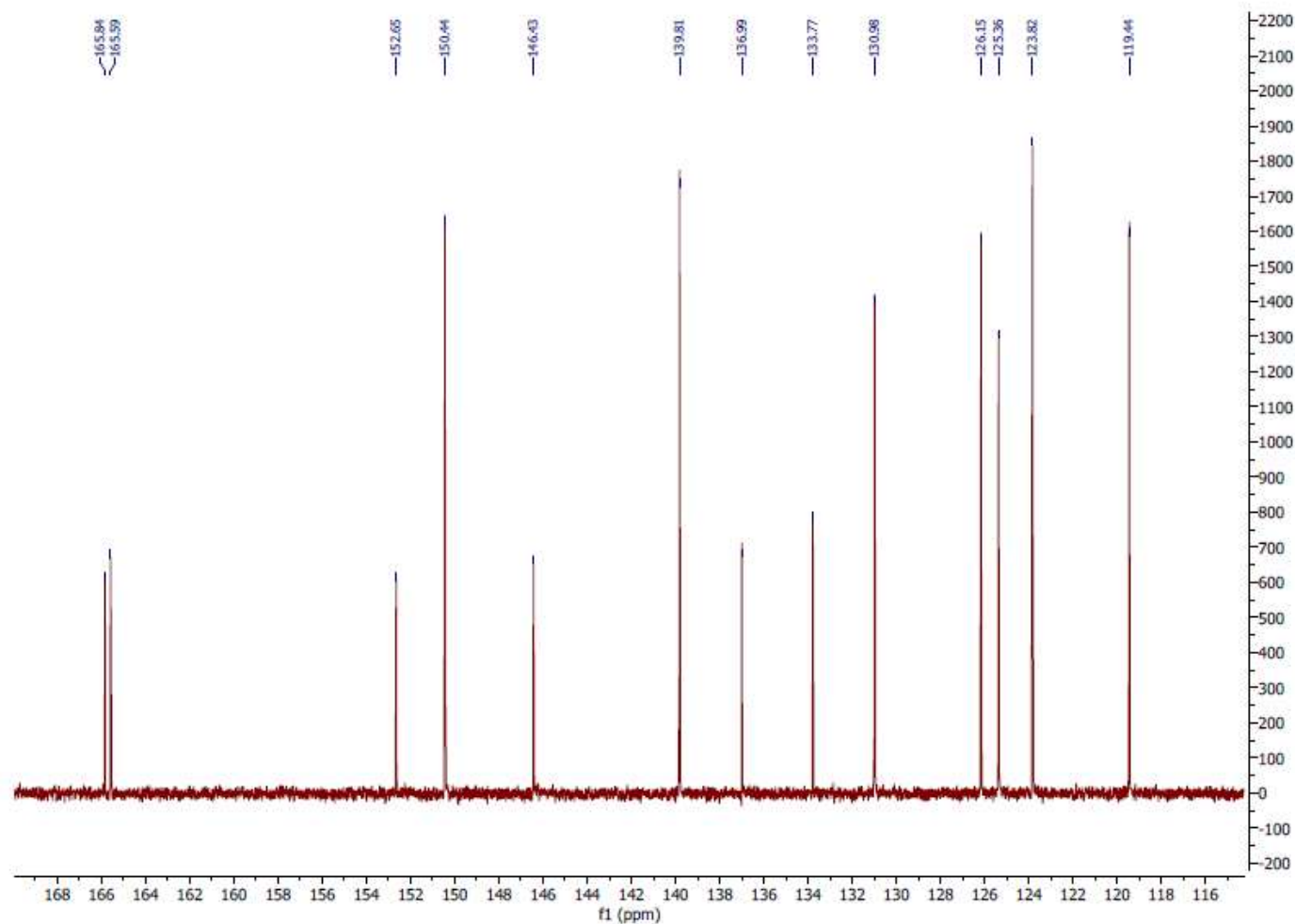


Figura 88: destaque do espectro de ^{13}C para a substância 2Npyr4NO₂

Atribuição dos carbonos segundo a numeração da imagem: 119,44 ppm – 4; 123,82 ppm – 17; 125,36 ppm – 14; 126,15 ppm – 1; 130,98 ppm – 2; 133,77 ppm – 6; 136,99 ppm – 5; 139,81 ppm – 16; 146,43 ppm – 12; 150,44 ppm – 15; 152,65 ppm – 3; 165,59 ppm – 7; 165,84 ppm – 9; O sinal em 40,45 ppm corresponde ao solvente deuterado DMSO (D₆);

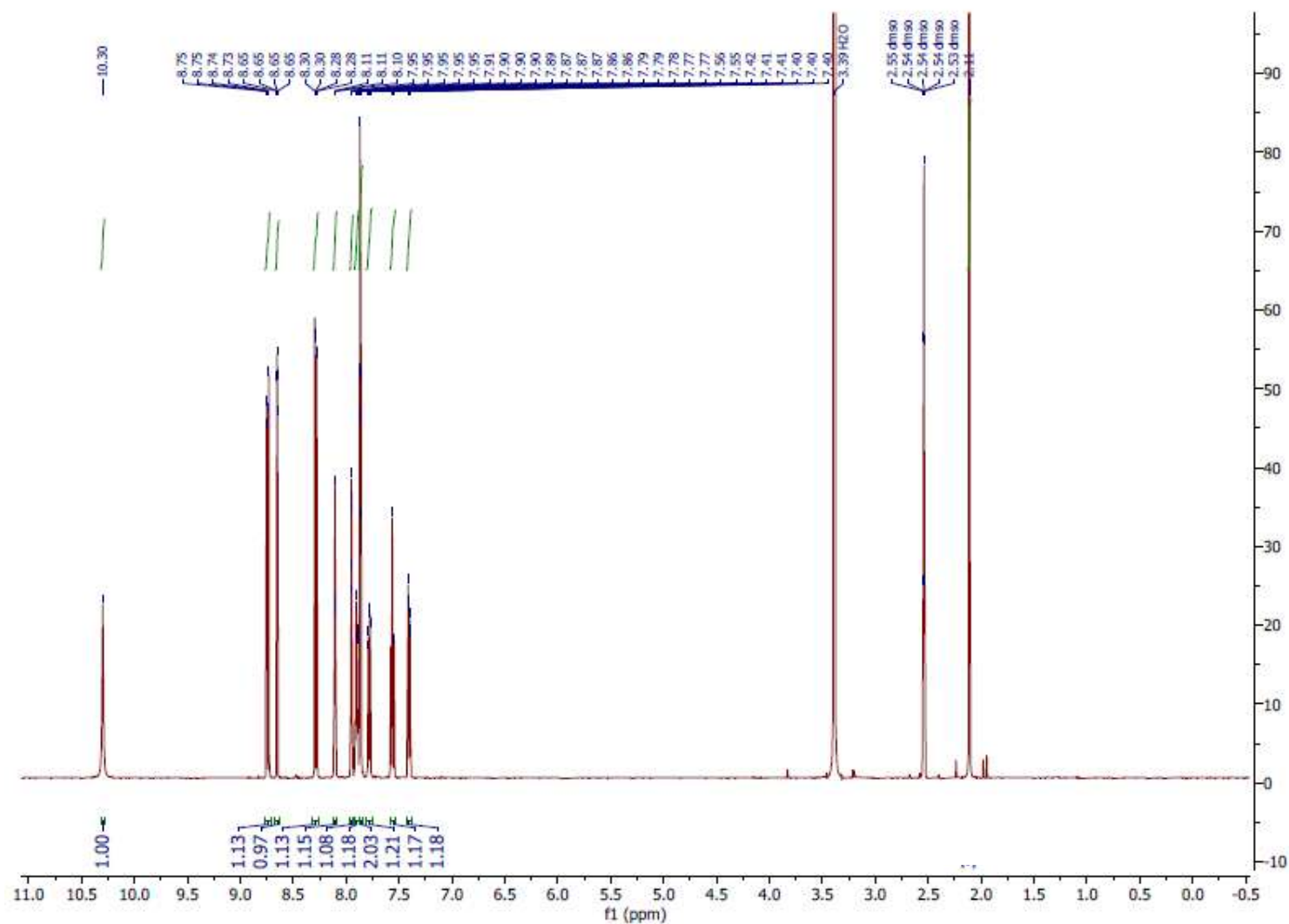
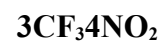


Figura 89: espectro de ^1H para a substância $3\text{CF}_3\text{4NO}_2$

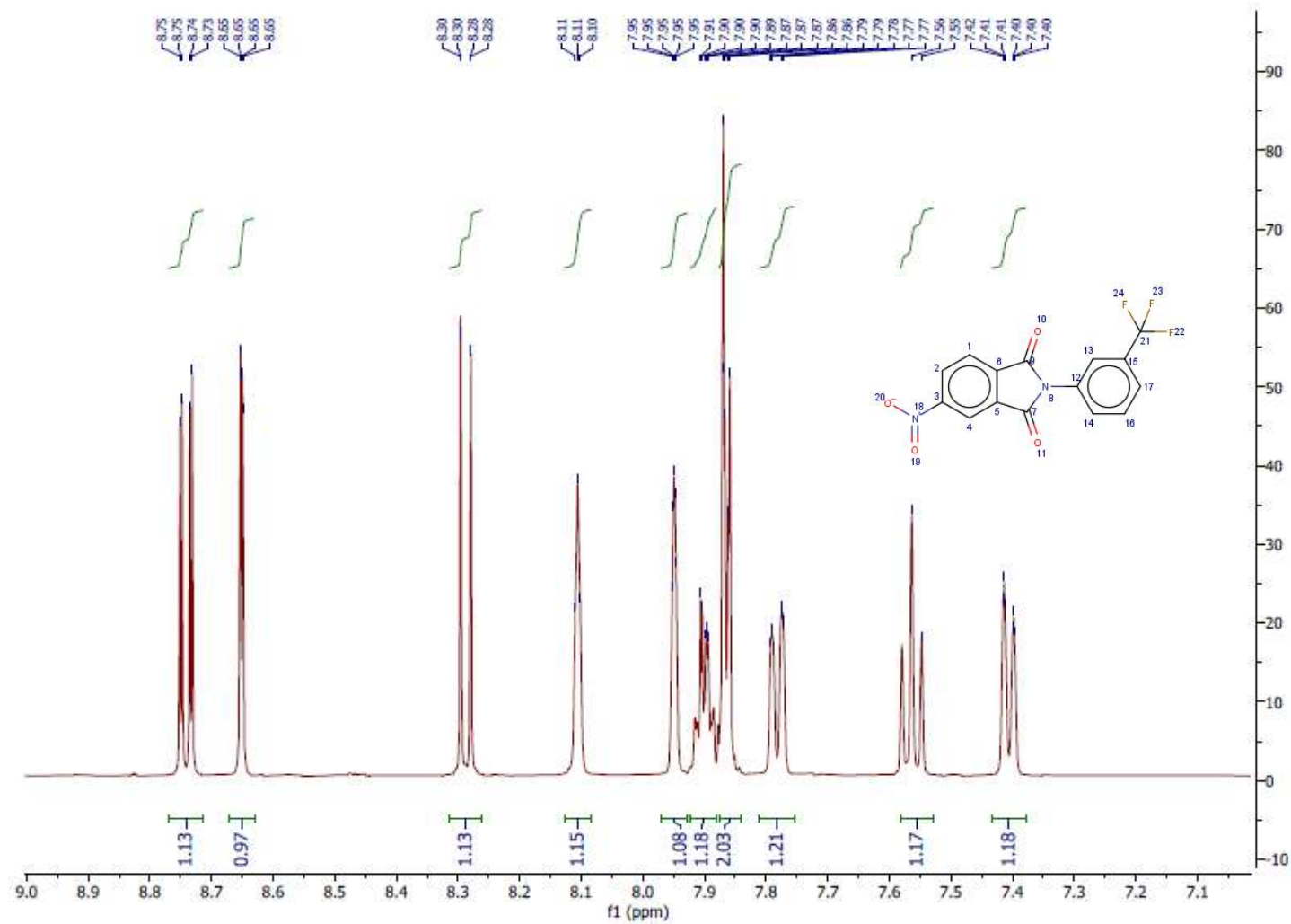


Figura 90: destaque do espectro de ^1H para a substância $3\text{CF}_34\text{NO}_2$

Atribuição dos hidrogênios, segundo os átomos que estão ligados de acordo com a numeração da imagem: 7,40 ppm, dt – 14; 7,56 ppm, t – 16; 7,95 ppm, t ou qi (mal resolvido, presença de F) – 17; 8,11 ppm, t ou sx (mal resolvido, presença de F) -13; 8,29 ppm, dd – 1; 8,65 ppm, dd – 2; 4,74 ppm, dd – 4; Sinais em 7,91, 7,89 e 7,79 ppm (somados, 4 H aromáticos) e 2,01 ppm (2 H da amina) correspondem a 3-trifluorometil-anilina que presente no meio reacional vinda de etapas anteriores; Sinal em 3,39 ppm corresponde ao H de HDO de resíduo; Sinal em 2,54 ppm corresponde ao solvente deuterado DMSO (D₆);

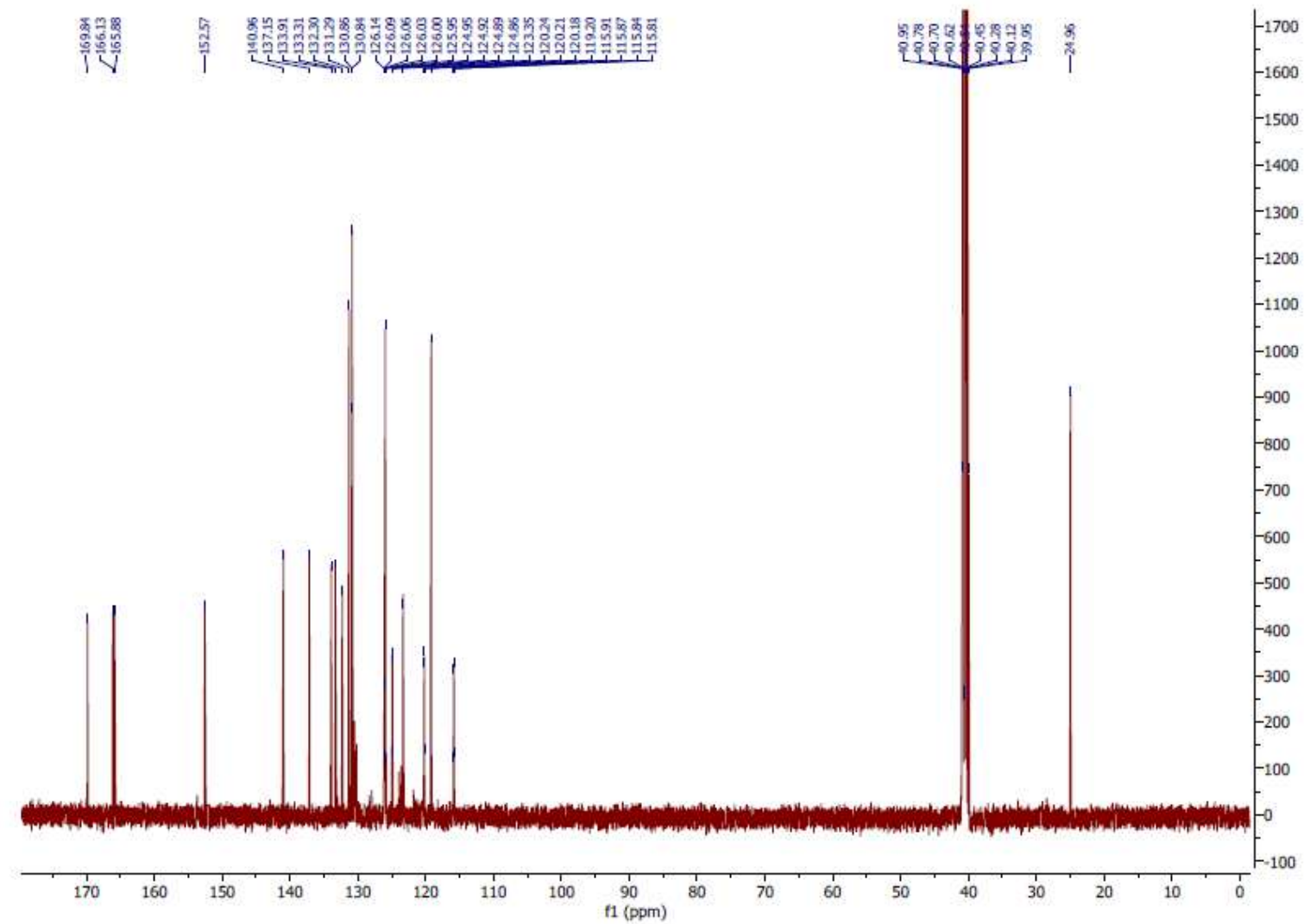


Figura 91: espectro de ^{13}C para a substância $3\text{CF}_34\text{NO}_2$

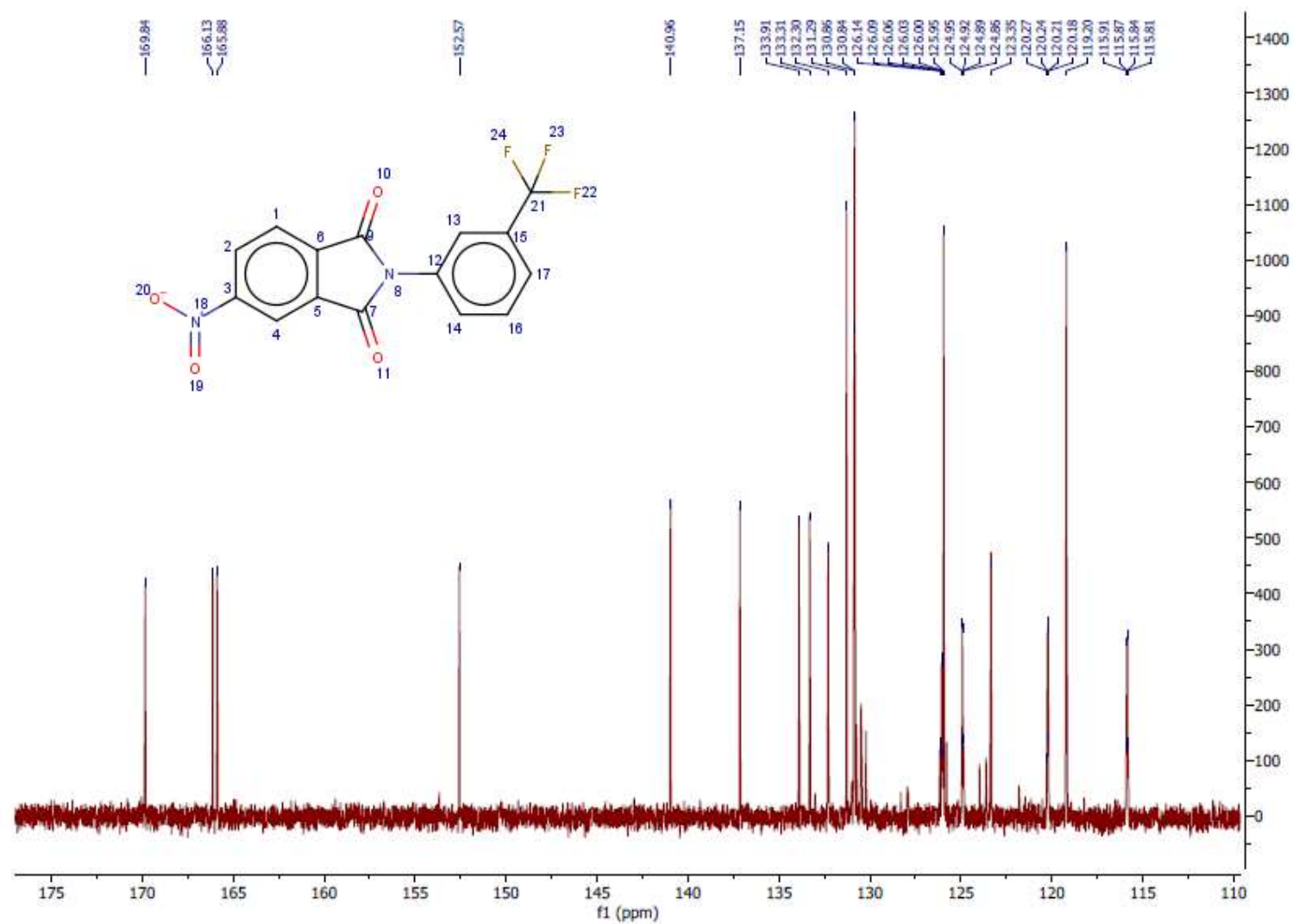


Figura 92: destaque do espectro de ^{13}C para a substância $3\text{CF}_34\text{NO}_2$

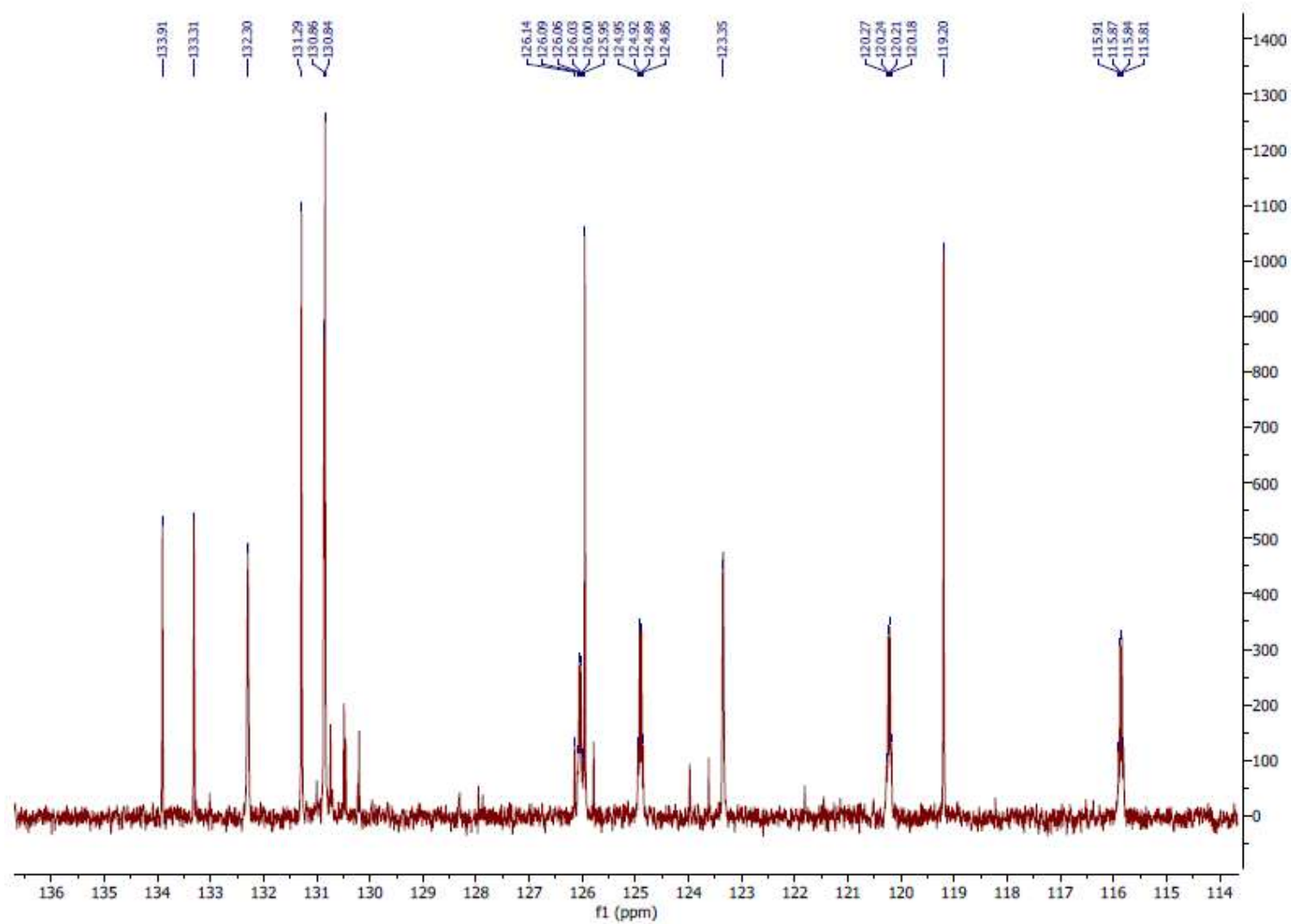


Figura 93: segundo destaque do espectro de ^{13}C para a substância $3\text{CF}_34\text{NO}_2$

Atribuição dos carbonos segundo a numeração da imagem: 115,86 ppm – 13; 120,22 ppm – 17; 124,90 ppm – 4; 126,00 ppm – 21, 1; 130,84 ppm – 16; 130,86 ppm – 2; 132,30 ppm – 5; 133,31 ppm – 15; 133,91 ppm – 6; 137,15 ppm – 14; 140,96 ppm – 12; 152,57 ppm – 3; 165,88 ppm – 9; 166,13 ppm – 7;

Os sinais em 24,96 ppm (CH_3) e 169,84 ppm ($\text{C}=\text{O}$) correspondem a resíduo de HAc presente na amostra; O sinal em 40,45 ppm corresponde ao solvente deuterado DMSO (D_6); Os sinais em 131,29 ppm, 119,20 ppm, 123,35 ppm, e os pequenos sinais antes do sinal de 130,84 ppm correspondem aos carbonos de resíduos de 3-trifluorometil-anilina;

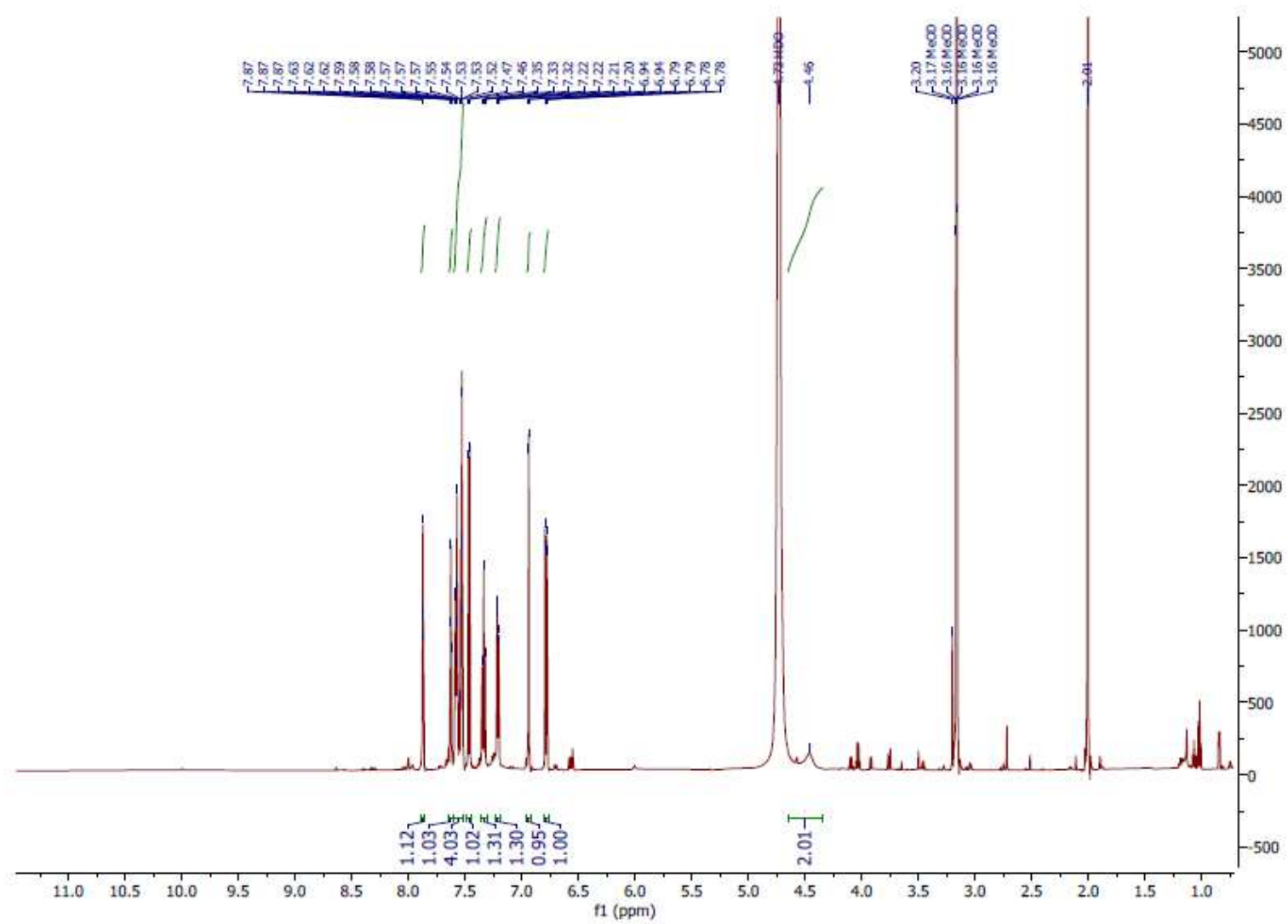
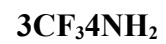


Figura 94: espectro de ^1H para a substância $3\text{CF}_3\text{4NH}_2$

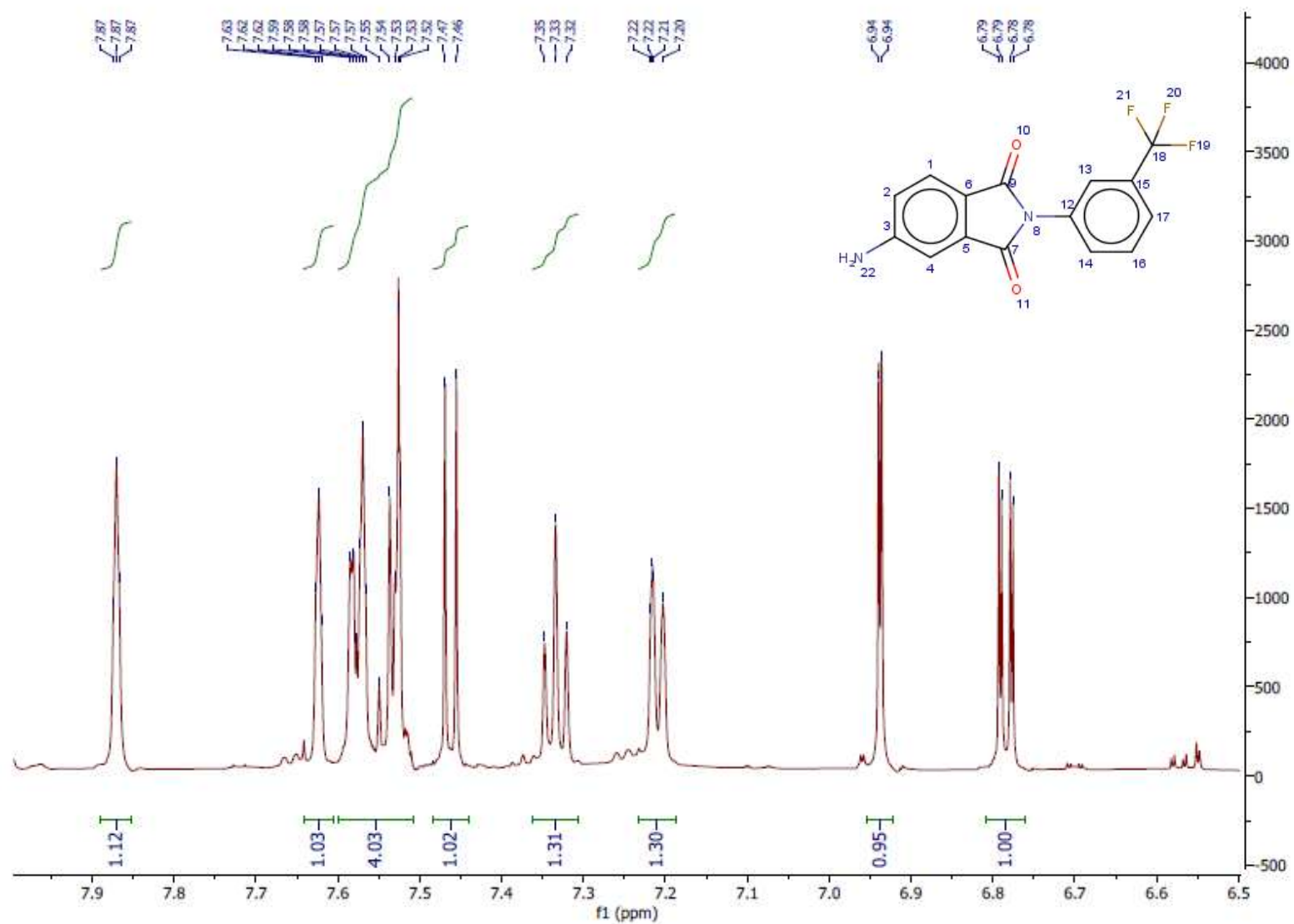


Figura 95: destaque do espectro de ^1H para a substância 3CF₃4NH₂

Atribuição dos hidrogênios, segundo os átomos que estão ligados de acordo com a numeração da imagem: 4,46 ppm, s – 22; 6,78 ppm, dd – 2; 6,94 ppm, d – 4; 7,21 ppm, dd – 1; 7,33 ppm, t – 16; 7,46 ppm, d – 14; 7,62 ppm, t (mal resolvido) – 13; 7,87 ppm, t (mal resolvido) – 17; Sinais em 7,55 ppm (somados, 4 H aromáticos) e 2,01 ppm (2 H da amina) correspondem a 3-trifluorometil-anilina presente no meio reacional vinda de etapas anteriores; Sinal em 4,73 ppm corresponde ao H de HDO de resíduo; Sinal em 3,16 ppm corresponde ao solvente deuterado MeOH (D₄);

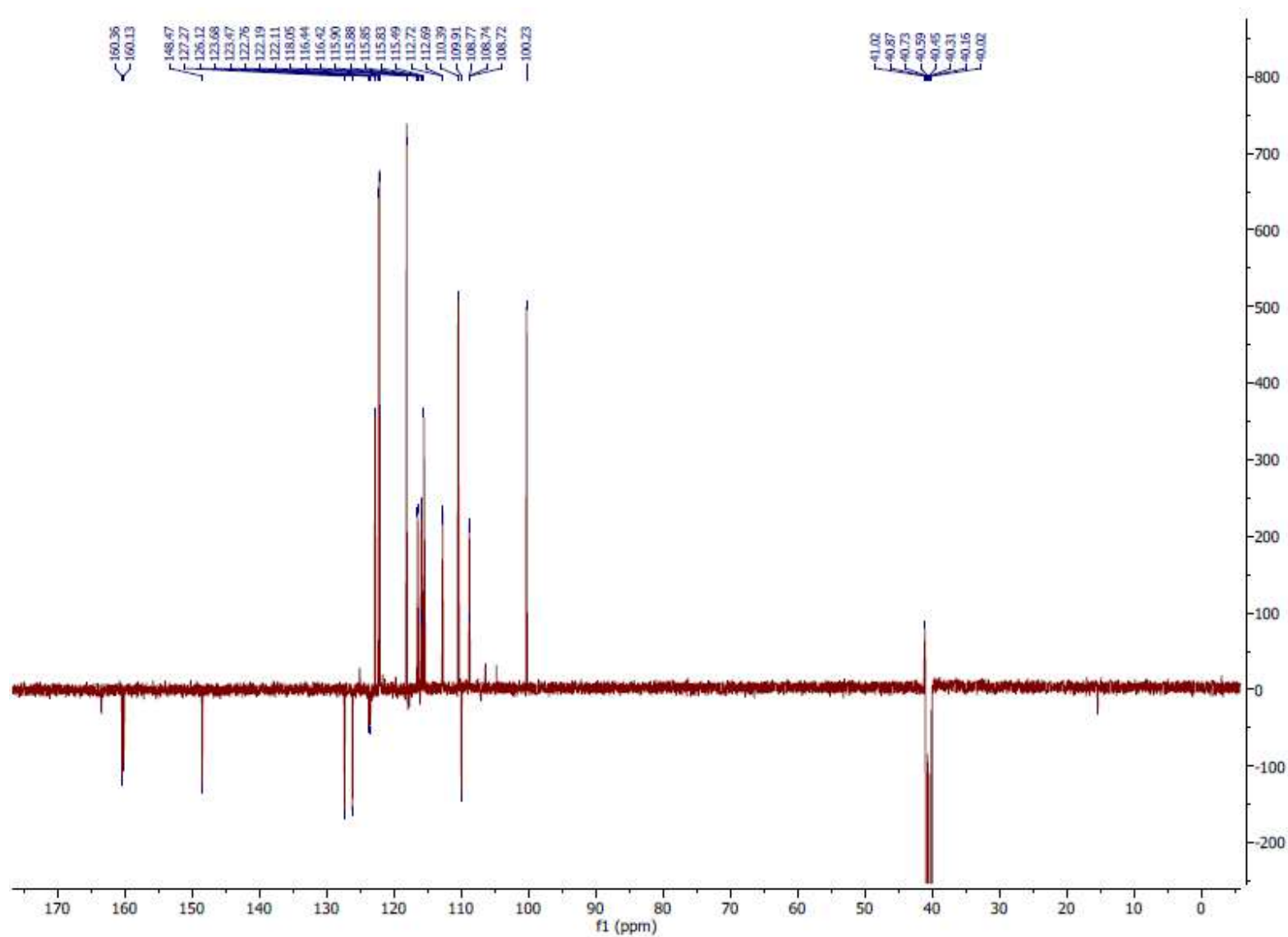


Figura 96: espectro de ^{13}C para a substância $3\text{CF}_34\text{NH}_2$

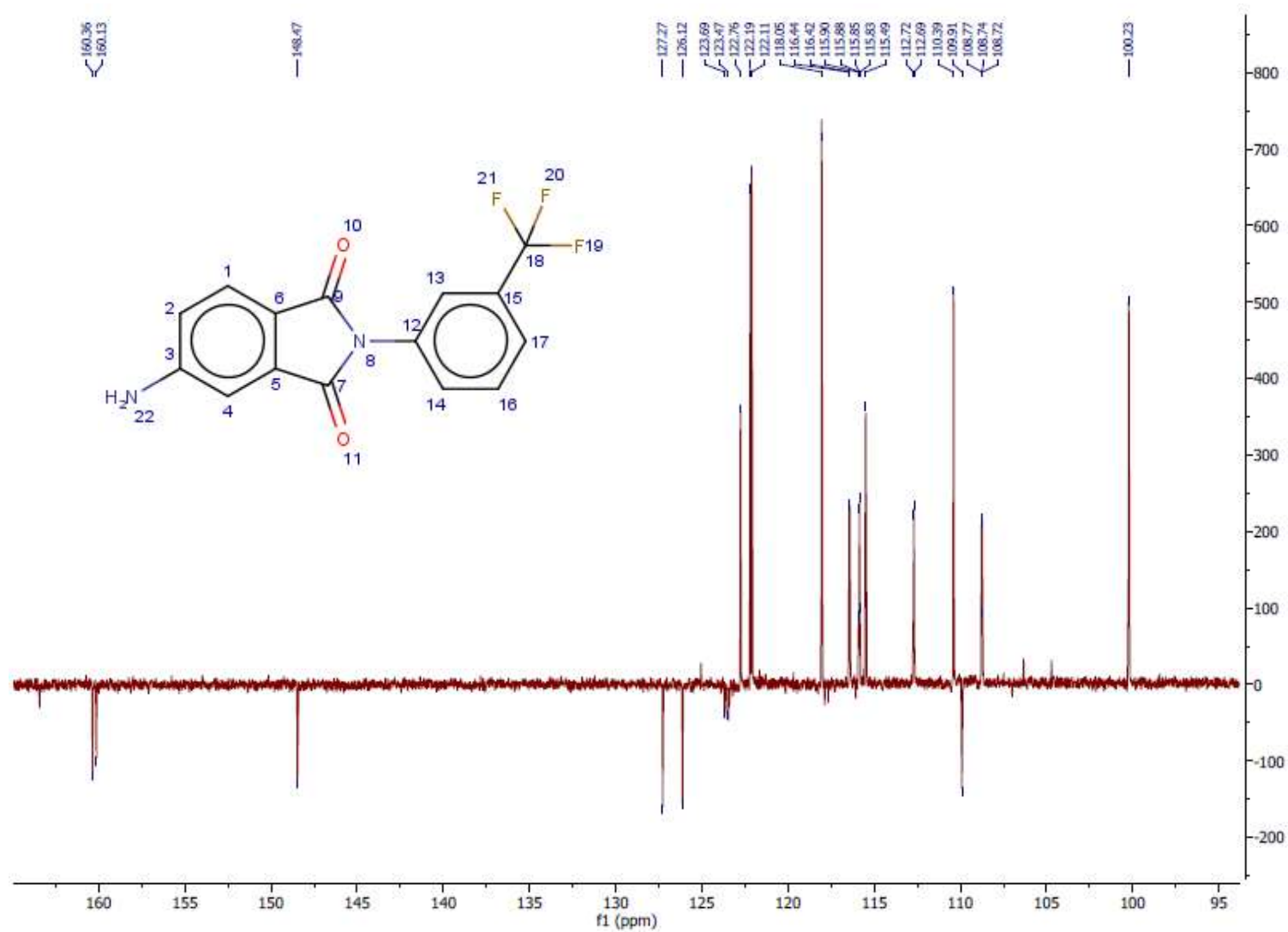


Figura 97: destaque do espectro de ¹³C para a substância 3CF₃4NH₂

Atribuição dos carbonos segundo a numeração da imagem: 100,23 ppm – 4; 108,74 ppm -13; 109,91 ppm -2; 110,39 ppm -17; 112,70 ppm -1; 115,49 ppm -18; 118,05 ppm -16; 122,76 ppm – 15; 123,47 ppm – 6; 123,69 ppm – 5; 126,12 ppm – 14; 127,27 ppm – 12; 148,47 ppm – 3; 160,13 ppm -9; 160,36 ppm – 7; Os sinais em 116,44 ppm, 116,42 ppm, 115,85 ppm, 155,90 ppm, e os dois pequenos sinais negativos atrás de 118,05 ppm (somados, 6 carbonos) correspondem aos carbonos de resíduos de 3-trifluorometil-anilina; O sinal em 40,45 ppm corresponde ao solvente deuterado DMSO (D₆);