

Universidade Federal do Triângulo Mineiro

João Vitor Cagliari

Candidatos a fármacos contra leishmaniose:
Compreensão da relação estrutura molecular com a atividade biológica e
desenho racional de inibidores

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Amanda Danuello
Pivatto.

Coorientador: Prof. Dr. Moacyr Comar Junior

Uberaba

2022

João Vitor Cagliari

Candidatos a fármacos contra leishmaniose:
Compreensão da relação estrutura molecular com a atividade biológica e
desenho racional de inibidores

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Química de Minas Gerais, da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, como requisito parcial para a obtenção do título de mestre.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Amanda Danuello Pivatto.

Coorientador: Prof. Dr. Moacyr Comar Junior

Uberaba

2022

**Catálogo na fonte: Biblioteca da Universidade Federal do
Triângulo Mineiro**

C133c Cagliari, João Vitor
Candidatos a fármacos contra leishmaniose: compreensão da
relação estrutura molecular com a atividade biológica e desenho
racional de inibidores / João Vitor Cagliari. -- 2022.
183 p. : il., graf., tab.

Dissertação (Mestrado Multicêntrico em Química de Minas
Gerais) -- Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, MG,
2022
Orientadora: Profa. Dra. Amanda Danuello Pivatto
Coorientadora: Prof. Dr. Moacyr Comar Junior

1. Leishmaniose. 2. Simulação de Acoplamento Molecular. 3.
Inibidores da Topoisomerase. 4. Arginase. I. Pivatto, Amanda
Danuello. II. Universidade Federal do Triângulo Mineiro. III. Título.
CDU 616.993.161-48.63

João Vitor Cagliari

Candidatos a fármacos contra leishmaniose:
Compreensão da relação estrutura molecular com a atividade biológica e
desenho racional de inibidores

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Química de Minas Gerais, da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, como requisito parcial para a obtenção do título de mestre.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Amanda Danuello Pivatto.

Coorientador: Prof. Dr. Moacyr Comar Junior

7 de julho de 2022.

Banca Examinadora:



Documento assinado eletronicamente por celso de oliveira rezende júnior, Usuário Externo, em 08/07/2022, às 13:22, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020 e no art. 34 da Portaria Reitoria/UFTM nº 87, de 17 de agosto de 2021.



Documento assinado eletronicamente por Alex Gutterres Taranto, Usuário Externo, em 08/07/2022, às 16:55, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020 e no art. 34 da Portaria Reitoria/UFTM nº 87, de 17 de agosto de 2021.



Documento assinado eletronicamente por Amanda Danuello Pivatto, Usuário Externo, em 26/07/2022, às 21:31, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020 e no art. 34 da Portaria Reitoria/UFTM nº 87, de 17 de agosto de 2021.



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.uftm.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_ace_sso_externo=0, informando o código verificador 0775494 e o código CRC 1D8C4FA4.

Referência: Processo nº 23085

Uberaba

2022

AGRADECIMENTOS

Os trajetos percorridos durante todo esse trabalho foram intenso e cansativo, foi necessário vencer diversos obstáculos para que no fim pudesse finalizar e entregar esta dissertação. Muitas pessoas fizeram parte desse caminho, direta ou indiretamente que me auxiliaram e me mantiveram firme. Minha mãe Silvana Aparecida Cagliari que merece todo o destaque necessário, foi quem me ajudou no que eu precisasse para alcançar meus sonhos e objetivos, me ensinou a não desistir independente dos obstáculos e desafios.

Agradeço ao meu pai Giberto Cagliari Junior que mesmo não estando entre nós me ensinou a ser uma pessoa de muita responsabilidade e persistente, valorizando sempre a relação com familiares e amigos.

Agradeço aos meus amigos que mostraram como é importante valorizar a amizade e como nesses tempos difíceis que passamos com a pandemia às relações são extremamente necessárias para o cuidado com a saúde mental e psicológica. Agradeço pela paciência por me ouvirem falar sobre dissertação por diversas vezes.

Agradeço aos meus Orientadores, professora Dra Amanda Danuello Pivatto e professor Dr Moacyr Comar Junior que foram importantes com suas orientações e ensinamentos.

Agradeço aos colaboradores deste trabalho, sem eles muitas discussões de resultados não seriam possíveis. Sendo eles: Raul Marques Novais pela síntese do análogo para testes biológicos. Testes biológicos realizados pela professora Dra Fernanda Maria Santiago e pelo auxílio de sua aluna Iasmin Aparecida Cunha Araújo. E ao professor Dr Moacyr Comar Junior a realização dos estudos de dinâmica molecular.

Por fim, mas não menos importante, agradeço aos órgãos de fomento CNPq e FAPEMIG pelo suporte financeiro, a CAPES pela bolsa concedida que me proporcionou condições para que eu pudesse finalizar mais uma etapa acadêmica, e a UFTM pelo acolhimento e ensinamentos durante minha trajetória na graduação e agora na minha pós-graduação.

RESUMO

O desenvolvimento de um novo fármaco pode levar muitos anos e diversas abordagens computacionais são empregadas em diferentes estágios do processo de desenvolvimento de forma a aperfeiçoar a descoberta de novos compostos para tratar diversas patologias, entre elas a leishmaniose, uma doença negligenciada que carece de medicamentos eficazes, menos tóxicos e de baixo custo. Diante disso, foi realizada uma revisão bibliográfica de compostos com atividade inibitória da topoisomerase e arginase, alvos enzimáticos relacionados à leishmaniose, e foi possível verificar quais características estruturais auxiliam nas interações com esses receptores. Para a topoisomerase, a aromaticidade dos ligantes está atrelada a uma maior afinidade pela enzima, mais especificamente aumentando possibilidades de compostos atuarem por intercalação na quebra da fita de DNA, pois os venenos de topoisomerase intercalantes são mais ativos clinicamente como a camptotecina com valores de afinidade de $-9,87$ kcal/mol. No alvo arginase, foi gerado um modelo por homologia (*Leishmania amazonensis*) que, de acordo com os parâmetros utilizados na plataforma SWISS-MODEL, é confiável e apto para a utilização no *docking* molecular, de acordo com os parâmetros QMEAN e GMQE com respectivos valores $-0,09$ e $0,98$. Na arginase há uma predominância de interações principalmente com os cofatores (Mn^{2+}) e que são essenciais para a atividade desta enzima, desta forma a inibição apresentada pelo ácido cafeico com valor de afinidade de $-11,56$ kcal/mol é um bom exemplo. Este tipo de interação também foi observado na triagem virtual realizada com os compostos da base de dados do NuBBE, pois as moléculas com melhores afinidades com a arginase interagem com os cofatores, sendo que a função ácido carboxílico é a predominante nessa interação. Com base nos resultados obtidos *in silico*, foram planejados seis derivados do ácido cafeico, sendo que o composto **IV** apresentou melhor afinidade pela arginase do parasita e foi sintetizado em 35% de rendimento. Foram realizados ensaios contra *L. amazonenses* e *L. infantum*, sendo que o composto **IV** apresentou valores de CI_{50} de $0,25$ e $0,35$ $\mu\text{mol/L}$, respectivamente. Estes valores mostram que **IV** é um composto promissor no desenvolvimento de novos candidatos a fármacos para o tratamento de leishmaniose, já que o ensaio de citotoxicidade realizado em células HepG2 apresentou CC_{50} de $2,00$ $\mu\text{mol/L}$. Desta forma, o presente trabalho contribui significativamente com o desenvolvimento de novas alternativas terapêuticas para o tratamento da leishmaniose.

Palavras-chave: Leishmaniose. *Docking* molecular. Topoisomerase. Arginase.

ABSTRACT

The development of a new drug can take many years and several computational approaches which were used at different stages of the process in order to improve the discovery of new compounds to treat several pathologies, including leishmaniasis, a neglected disease who needs of effective drugs, with low toxicity and cost. Thereby, a review on the literature searching form compounds with inhibitory activity on topoisomerase and arginase (targets related to leishmaniasis), was carried out, and so it was possible to verify what are the main structural features responsible for the interactions with these receptors. For topoisomerase, the aromaticity of the ligands improve their affinity for the enzyme, mainly by increasing the possibilities of these compounds that may act in the intercalation of the DNA strand break, since topoisomerase venoms that act as intercalating like camptothecin, show high affinity values of -9.87 kcal/mol. In the arginase target, a model of homology (*Leishmania amazonensis*) was generated according to the parameters used in the SWISS-MODEL platform, that is reliable and suitable for use in molecular docking, according to the parameters QMEAN and GMQE with respective values -0.09 and 0.98. Furthermore, in arginase there is a predominance of interactions with cofactors (Mn^{2+}) which are essential for the activity of the enzyme, thus the inhibition presented by the caffeic acid with an affinity value of -11.56 kcal/cal, is a great exemplo. This kind of interaction was also observed in the virtual screening performed with the compounds from NuBBE database, with the molecules interacting with arginase through the cofactors, with the carboxylic acid function being predominant. Based on *in silico* results, six derivatives of caffeic acid were designed, of which the compound **IV** show better affinity for the parasite's arginase and it was synthesized in 35% yield. Further, compound **IV** was evaluated against *L. amazonenses* and *L. infantum*, and presented IC_{50} values of 0,25 e 0,35 $\mu\text{mol/L}$, respectively. These values shows that **IV** is a promising compound in the development of new candidates for drugs to treat leishmaniois, since the cytotoxicity assay performed on HepG2 cells showed a CC_{50} of 2,00 $\mu\text{mol/L}$. In this way, the present work contributes significantly to the development of new alternatives for the treatment of leishmaniasis.

Keywords: Leishmaniasis. Molecular docking. Topoisomerase. Arginase.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Fármacos utilizados no tratamento atual da leishmaniose.....	9
Figura 2 - Enzima arginase 4ity.....	13
Figura 3 - Complexo DNA-topoisomerase 2b9s.....	14
Figura 4 - Esquema para obtenção de um ligante de referência para redock.....	20
Figura 5 - Reação para obtenção do produto IV.....	23
Figura 6 - Sobreposição referente ao ligante 17 (camptotecina) da enzima topoisomerase I humana.....	28
Figura 7 - Interações camptotencina com a enzima topoisomerase I humana.....	28
Figura 8 - Valores do <i>score</i> dos <i>dockings</i> para a enzima topoisomerase I de moléculas testadas <i>in vitro</i>	29
Figura 9 - Grupos das moléculas 1.1-12.1.....	31
Figura 10 - Moléculas 7.1, 9.1 e 12.1 sobrepostas nas topoisomerasas.....	32
Figura 11 - Interações não-covalentes com DNA.....	33
Figura 12 - Estruturas das moléculas 13.1-16.1.....	34
Figura 13 - Interações da molécula 16.1 com a topoisomerase <i>L. donovani</i>	35
Figura 14 - Complexo <i>L. donovani</i> topoisomerase-DNA e as moléculas 13.1-16.1 ...	35
Figura 15 - Sobreposição referente ao ligante da enzima arginase I humana 6v7c..	36
Figura 16 - Interações ligante da enzima 6v7c arginase humana I.....	37
Figura 17 - Sobreposição referente ao ligante da enzima Arginase II humana 4i06 .	38
Figura 18 - Interações ligante da enzima 6v7c arginase humana I.....	38
Figura 19 - Ligante de referência da enzima 5hja.....	39
Figura 20 - Alinhamento de sequências entre 4ity <i>L. mexicana</i> e <i>L. amazonensis</i>	40
Figura 21 - Propriedade QMEAN global e seus termos individuais.....	41
Figura 22 - Propriedade QMEAN local.....	41
Figura 23 - QMEAN de proteínas do PDB e do modelo <i>L. amazonensis</i>	42
Figura 24 - Gráficos de Ramachandran referente ao modelo.....	43
Figura 25 - Sobreposição referente ao ligante (5hja) na arginase <i>L. amazonensis</i> ...	44
Figura 26 - Docking do ligante (5hja) na enzima homóloga <i>L. amazonensis</i>	44
Figura 27 - Valores do <i>score</i> dos <i>dockings</i> para as enzimas arginase de moléculas testadas <i>in vitro</i>	45

Figura 28 - Frequência dos aminoácidos que interagem com as moléculas seletivas a <i>L. amazonensis</i>	46
Figura 29 - Interações molécula 7.2, 9.2 e 18.2a em <i>L. amazonensis</i> respectivamente	47
Figura 30 - Interações da molécula 16.2 em <i>L. amazonensis</i>	48
Figura 31 - Interação da molécula 31 em <i>L. amazonensis</i>	51
Figura 32 - Análogos ao ácido cafeico e ácido cinâmico	52
Figura 33 - Interações do análogo IV com o alvo <i>L. amazonensis</i> (2D e 3D)	53
Figura 34 - Flutuação atômica (RMSF)	54
Figura 35 - RMSD dos ligantes	55
Figura 36 - RMSD	55
Figura 37 - Interação dos resíduos para o ligante 31 e para o produto IV respectivamente	56
Figura 38 - Proposta de mecanismo para obtenção de IV	57
Figura 39 - Interações molécula 7.2, 9.2 e 18.2a em <i>L. amazonensis</i> respectivamente	58
Figura 40 - Espectro de RMN de ¹ H de IV (400 MHz, CDCl ₃)	59
Figura 41 - Ampliação do espectro de RMN de ¹ H de IV (δ 5,9–7,9)	60
Figura 42 - Espectro de RMN de ¹³ C de IV (100 MHz, CDCl ₃)	61
Figura 43 - Mapa de contorno HSQC de IV	63
Figura 44 - Ampliação do mapa de contorno HSQC de IV (δ 1,2–4,7)	63
Figura 45 - Ampliação do mapa de contorno HSQC de IV (δ 6,0–8,3)	64
Figura 46 - Mapa de contorno HMBC de IV	64
Figura 47 - Ampliação do mapa de contorno HMBC de IV (δ 3,6–8,0)	65
Figura 48 - Ampliação do mapa de contorno HMBC de IV (δ 4,32–4,64)	65
Figura 49 - Principais correlações H–C observadas no mapa de contorno HMBC de IV	66
Figura 50 - Gráficos de regressão dos resultados <i>in vitro</i>	67
Figura 51 - Moléculas com CI ₅₀ próximos ao produto IV	69

LISTA DE TABELA

Tabela 1 - Atuais medicamentos leishmanicidas e suas características	10
Tabela 2 - Valores de CI ₅₀ para as enzimas topoisomerase moléculas 1.1-12.1	30
Tabela 3 - Moléculas do NuBBE com afinidade a arginase <i>L. amazonensis</i> sem atividade na literatura	50
Tabela 4 - Valores do <i>score</i> dos <i>dockings</i> dos análogos em kcal/mol	53
Tabela 5 - Ligações de hidrogênio dos ligantes	56
Tabela 6 - Dados de RMN de IV (CDCl ₃)	62
Tabela 7 - Valores de CC ₅₀ determinados para células HepG2, valores de CI ₅₀ determinados para formas promastigotas de <i>L. infantum</i> e <i>L. amazonensis</i> e índice terapêutico (IT)	67
Tabela A - Docking de inibidores topoisomerase 1B <i>L. infantum</i> e <i>L. donovani</i>	80
Tabela B - Docking de inibidores arginase <i>L. amazonensis</i>	96
Tabela C - Moléculas promissores do banco NuBBE.....	131

LISTA DE ABREVIATURAS

AcOEt – Acetato de Etila

CCD – Cromatografia em camada delgada

CC₅₀ – Concentração Citotóxica do composto que inibe 50% da viabilidade das células

CI₅₀ – Concentração Inibitória (concentração que inibe 50% da população)

COVID-19 – Doença do Coronavírus de 2019 ("Coronavirus Disease 2019")

DMAP – 4-dimetilaminopiridina

DNA – Ácido Desoxirribonucleico ("Deoxyribonucleic Acid")

DO – Densidade Ótica

EDC – 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida GMQE – Estimativa de Qualidade do Modelo Global ("Global Model Quality Estimation")

HMBC – Correlação de Ligação Múltipla Heteronuclear ("Heteronuclear Multiple Bond Correlation")

HPLC – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência ("High Performance Liquid Chromatography")

HSQC – Coerência Quântica Única Heteronuclear ("Heteronuclear Single Quantum Coherence")

LV – Leishmania visceral

MeOH – Metanol

MTT – 3-(4,5-dimetiltiazol-2il)-2,5-di-fenil brometo de tetrazolina

NuBBE – Núcleo de Bioensaios, Biossíntese e Ecofisiologia de Produtos Naturais

OMS – Organização Mundial de Saúde

PDB – Banco de Dados de Proteínas ("Protein Data Bank")

QMEAN – Análise de Modelo Qualitativo de Energia ("Qualitative Model Energy Analysis")

RMN – Ressonância Magnética Nuclear

RMSD – Desvio Quadrático Médio ("Root Mean Square Deviation")

SARS-CoV-2 - Coronavirus 2 da síndrome respiratória aguda grave

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	7
1.1 LEISHMANIA SPP	7
1.2 RECEPTORES ENZIMÁTICOS ALVOS PARA TRATAMENTO DE LEISHMANIOSE	12
1.2.1 Arginase	12
1.2.2 Topoisomerase	13
2 OBJETIVOS	15
2.1 Objetivos gerais.....	15
2.2 Objetivos específicos	16
3 METODOLOGIA	16
3.1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
3.2 LIGANTES.....	17
3.3 MACROMOLÉCULAS	17
3.3.1 Topoisomerase humana	17
3.3.2 Topoisomerase Leishmania donovani	18
3.3.3 Arginase humana	18
3.3.4 Arginase <i>Leishmania amazonensis</i>	18
3.4 DOCKING MOLECULAR DE REFERÊNCIA	20
3.5 DOCKING MOLECULAR DO BANCO DE MOLÉCULAS NUBBE	20
3.6 DESENHO DE INIBIDORES	20
3.6.1 Síntese do composto planejado racionalmente	21
3.6.1.1 Reagentes e solvente.....	21
3.6.1.2 Cromatografia.....	21
3.6.1.2.1 Cromatografia em camada delgada (CCD)	21
3.6.1.2.2 Cromatografia em coluna	22
3.6.1.2.3 Ressonância magnética nuclear	22
3.6.1.4 Metodologia para a síntese do composto IV	22
3.6.2 Ensaios de viabilidade em células hepg2 e parasitos do gênero leishmania	23
3.6.5.1 Ensaio de citotoxicidade sobre a linhagem celular HepG2.....	24
3.6.3 Simulação de dinâmica molecular: protocolo de simulação	24
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES	26

4.1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA TOPOISOMERASE.....	26
4.2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA ARGINASE.....	26
4.4 DOCKING MOLECULAR DE REFERÊNCIA	26
4.4.1 Topoisomerase	26
4.4.2 Arginase	34
4.5 DOCKING MOLECULAR DO BANCO DE MOLÉCULAS NUBBE	47
4.6 DESENHO DE INIBIDORES	50
4.6.3 Simulação dinâmica molecular	52
4.7 SÍNTESE DO ANÁLOGO IV.....	55
4.8 ENSAIOS BIOLÓGICOS PARA O COMPOSTO IV	64
5 CONCLUSÃO	68
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	70

1 INTRODUÇÃO

1.1 LEISHMANIA SPP

A busca de novos compostos com atividade biológica para tratar diversas doenças é contínua durante o decorrer da história (COME, 2019). Mesmo com os avanços da tecnologia, algumas doenças se destacam por não terem ganho financeiro significativo para a indústria farmacêutica, e, sendo assim não apresentam tratamentos eficazes devido à falta de investimento em pesquisa e desenvolvimento. Estas doenças são conhecidas como doenças tropicais negligenciadas, como a leishmaniose, doença de Chagas e a doença do sono, afetando cerca de um bilhão de pessoas principalmente em países em desenvolvimento (CHATELAIN; IOSET, 2011; ZUCCA; SCUTERA; SAVOIA, 2013; RAJASEKARAN; CHEN, 2015; FIEL et al., 2017; IMAMURA, 2018; COME, 2019).

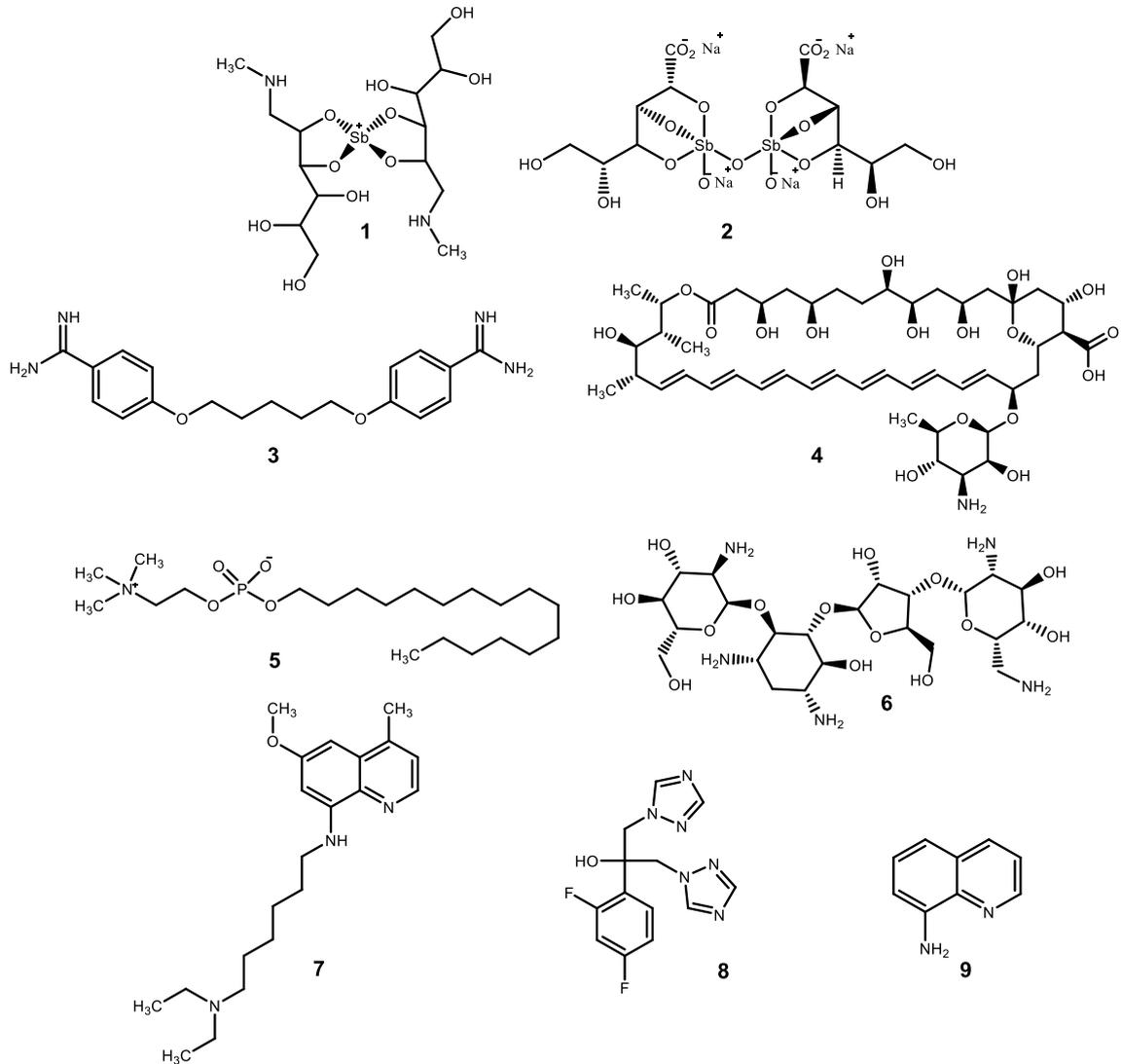
A leishmaniose é considerada pela Organização Mundial da Saúde (OMS), uma das doenças mais importantes no mundo causada por parasitas protozoários *Leishmania spp* da família Trypanosomatidae (mais de 20 espécies conhecidas). Transmitida pela picada de flebotomíneos fêmeas infectadas, popularmente conhecidas como moscas de areia ou mosquito palha, a enfermidade pode ir de leve para fatal (SINGH; KUMAR; SINGH, 2012; SYRJÄNEN et al., 2013; RAJASEKARAN; CHEN, 2015; FIEL et al., 2017; CALVO, 2018; MENDONÇA, 2018; WHO, 2019). A doença está associada à desnutrição, muito deslocamento populacional (fornecendo fonte de sangue), moradia precária (condições sanitárias domésticas deficientes), sistema imunológico fraco e falta de recursos financeiros, afetando principalmente países em desenvolvimento. Esta doença pode apresentar 3 formas principais: visceral, também conhecida como kala-azar (forma mais grave da doença); cutânea ou tegumentar (forma mais comum) e por último mucocutânea (SINGH; KUMAR; SINGH, 2012; OGUNGBE; NG; SETZER, 2013; RAJASEKARAN; CHEN, 2015; SCOTTI et al., 2015; WHO, 2019).

A forma mais séria é a visceral e na maioria dos casos (95%) é fatal quando o paciente não é tratado (WHO, 2019). Apresenta como características a infecção sistêmica, causada predominantemente pela *L. donovani* e *L. infantum*, acomete de crises irregulares de febre, perda de peso, aumento do fígado e do baço, anemia e

também pode afetar a medula óssea (OLIVEIRA, 2010; SINGH; KUMAR; SINGH, 2012; SCOTTI et al., 2015; FIEL et al., 2017; CALVO, 2018). A leishmaniose cutânea, ou tegumentar, é a forma mais comum da doença, apresentando como características lesões cutâneas, principalmente úlceras em lugares expostos pelo corpo. Geralmente é proveniente da infecção por *L. major*, *L. mexicana*, *L. brasiliensis*, *L. panamensis* e *L. amazonensis* (SINGH; KUMAR; SINGH, 2012; WHO, 2019). Por último, a leishmaniose mucocutânea tem como característica a destruição parcial ou total das membranas mucosas presente no nariz, boca e garganta e, geralmente, a infecção é provida pela *L. brasiliensis* e *L. mexicana* (MARTINS et al., 2011; WHO, 2019).

Os tratamentos atuais da leishmaniose contam com muitos obstáculos na sua execução em pacientes infectados. Ainda não existem vacinas que possam combater a infecção, mas existem quimioterápicos utilizados para o seu tratamento, sendo alguns deles (Figura 1): Antimonial pentavalente (1 e 2), Pentamidina (3), Anfotericina B e na sua forma lipídica (4), Miltefosina (5), Paromomicina (6), Sitamaquina (7), Fluconazol (8), 8-aminoquinolina (9). (OGUNGBE; SETZER, 2013; BERNAL; COY-BARRERA, 2014; PANDEY et al., 2016; TEJERÍA et al., 2016; RAJASEKARAN; CHEN, 2015).

Figura 1. Fármacos utilizados no tratamento atual da leishmaniose.



Fonte: Autor, 2022.

De forma resumida, a Tabela 1 mostra os medicamentos frequentemente utilizados atualmente, modo de ação que caracterizam a atividade leishmanicida, efeito colateral, dosagens utilizadas, modo de administração e por último, seus respectivos preços na época da publicação.

Tabela 1. Atuais medicamentos leishmanicidas e suas características.

Medicamento	Mecanismo de ação	Efeito adverso	Dosagem	Modo de administração	Custo
Estibogluconato de sódio	Comporta-se como um pró-fármaco, passando por redução biológica a uma forma trivalente mais ativa / tóxica de antimônio que exibe atividade antileishmanial.	Arritmia cardíaca e hepatite, levando à redução ou cessação do tratamento.	20 mg/Kg/dia por mês	Intravenoso e intramuscular.	US\$ 70-100 por frasco de 100 mL
Antimoniato de meglumina	Inibe a biossíntese macromolecular em amastigotas, possivelmente através de perturbação do metabolismo energético, devido à inibição da glicólise e da beta-oxidação dos ácidos graxos.	Dores articulares, dores musculares, náusea e vômito, cefaleia, febre, anorexia, alterações nos testes de função hepática. (*)	20 mg/Kg/dia (*)	Intravenoso e intramuscular. (*)	
Anfotericina B	Seletividade para 24 esteróis substituídos, principalmente ergo esterol, o equivalente primário de esterol em células de mamíferos, ajudando a aumentar a seletividade do fármaco em direção ao microorganismo.	Tromboflebite; toxicidades graves ocasionais, como miocardite; hipocalcemia grave; disfunção renal e até morte.	1 mg/Kg/dia por 15 dias	Intravenoso	US\$ 7.5 por frasco de 50 mL
Formulação lipídica (anfotericina B)	Acredita-se ser droga de ligação para precursores do ergosterol parasita, tais como lanosterol, causando ruptura da membrana do parasita.	Febre com rigor, calafrios e náusea.	1 mg/Kg/dia por mês	Intravenoso	US\$ 18 por frasco de 50 mL
Paromomicina	Liga-se à subunidade ribossômica 30S, interferindo no início da síntese de proteínas fixando o complexo ribossômico 30S-50S no códon de partida do mRNA, levando ao acúmulo de complexos de iniciação anormais.	Ototoxicidade e problemas na função hepática.	15 mg/Kg/dia for 21 dias	Intramuscular	US\$ 15 por tratamento
Miltefosina	O modo de ação principal é incerto; possível inibição da remodelação do éter. Apoptose postulada e inibição da citocromo C oxidase.	Teratogenicidade (a gravidez deve ser evitada durante o tratamento e após 2 meses).	2,5 mg/dia por 28 dias	Oral	US\$ 70 por 56 cápsulas

Fonte: Adaptado de Rajasekaran e Chen, 2015 e Sanofi-Aventis Farmacêutica Ltda (2015).

Diante dessas informações, é possível perceber a limitada disponibilidade de fármacos (custo), a diversidade de efeitos colaterais indesejados e o modo de administração predominantemente intravenoso e intramuscular que dificultam a adesão em países pobres, além da falta de compreensão do modo de ação e a resistência dos parasitas frente aos fármacos utilizados. Dessa forma, torna-se

evidente a importância da pesquisa e desenvolvimento de novos fármacos que apresentem alvos moleculares específicos e uma melhor compreensão do modo de ação, para que assim possam contribuir para alternativas mais eficientes no tratamento da Leishmaniose e de outras doenças negligenciadas (BERNAL; COY-BARRERA, 2014; IMAMURA, 2018).

Por outro lado, a descoberta de um novo fármaco pode levar anos e diversas abordagens computacionais são empregadas em diferentes estágios do processo de desenvolvimento de fármacos até sua chegada no mercado farmacêutico (RODRIGUES et al., 2012). Para isso, há a necessidade do emprego de métodos rápidos e relativamente precisos, capazes de identificar hits, pois existem muitos compostos já catalogados. A estratégia que mais se destaca, baseando-se na utilização de métodos computacionais, ou *in silico*, os quais ajudam na escolha inicial de compostos promissores é a triagem e tais compostos, posteriormente, são otimizados para mostrar eficiência em um modelo celular (FIEL et al., 2017). Estas técnicas *in silico* podem ser utilizadas como ferramentas de avaliação para descoberta de medicamentos tanto para a indústria farmacêutica como também para academia (principalmente quando atrelados a ensaios *in vitro* e *in vivo*), devido a suas versatilidades e características sinérgicas (DAVIS; MURRAY; HANDMAN, 2004; FERREIRA et al., 2015). Além disto, é possível obter informações moleculares para auxiliar o entendimento sobre os mecanismos de ação dos futuros fármacos como também de fármacos já utilizados para outros tratamentos.

Além de todas as preocupações e impactos causados pela leishmaniose, o mundo se encontra no meio de uma pandemia de COVID-19 (vírus SARS-CoV-2). Em alguns países a taxa de transmissão ainda permanece alta e, no Brasil, o perfil dos alvos mais afetados são as comunidades pobres (CARMO et al., 2020; CARVALHO et al., 2020; PESSOA; TEIXEIRA; CLEMENTINO, 2020). Estudos sobre relações entre Covid-19 e Leishmania visceral (LV) ainda são bem limitados, entretanto Miotti e colaboradores (2020), publicaram um primeiro caso de Covid-19 em pacientes com LV na Itália. Neste caso, os resultados indicam que a imunossupressão (redução da atividade ou eficiência do sistema imunológico) causada pela LV pode ter contribuído na piora do curso clínico do paciente, podendo apresentar vulnerabilidade do sistema imune contra a resposta antiviral. Os autores desta publicação, reforçam as possíveis relações entre doenças tropicais negligenciadas e a infecção por SARS-CoV-2 e a necessidade de serem

consideradas e investigadas, ressaltando a importância da pesquisa e desenvolvimento de tratamentos mais eficazes para as “doenças antes do Covid-19”.

1.2 RECEPTORES ENZIMÁTICOS ALVOS PARA TRATAMENTO DE LEISHMANIOSE

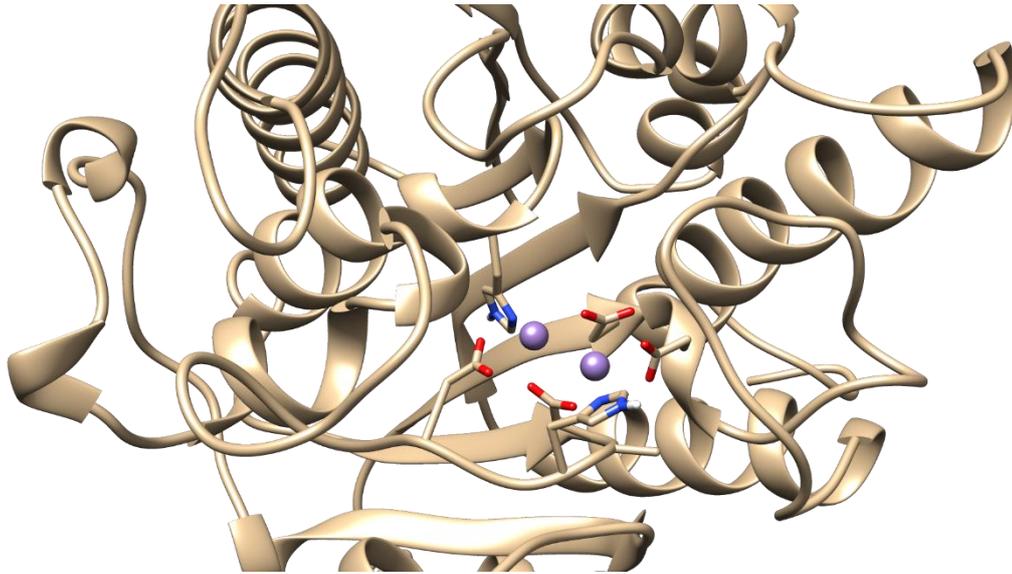
1.2.1 Arginase

A síntese de poliaminas é essencial para a sobrevivência da *Leishmania* e pode ser tratada como alvo no desenvolvimento de inibidores específicos desta via (COME, 2019). As poliaminas mais comuns são espermidina, putrescina e espermina, que são moléculas catiônicas que apresentam uma variedade de funções celulares, como na proliferação, diferenciação, síntese de macromoléculas, síntese de ácidos nucléicos, transportadores de membrana e participam de mecanismos antioxidantes na *Leishmania* (DOS SANTOS, 2019; COME, 2019).

A enzima inicial da síntese de poliaminas é a arginase, uma metaloenzima contendo manganês, na forma trimérica, catalisa a hidrólise de L-arginina em L-ortina e uréia, posteriormente ocorre outras reações catalíticas (ortina descarboxilase, S-adenosilmetionina descarboxilase, espermidina sintase, tripanotiona sintase e tripanotiona redutase) que dão origem às poliaminas (CRUZ et al., 2013; COME, 2019; FEITOSA et al., 2019).

A arginase (Figura 2) em microorganismos, plantas e invertebrados, está localizada nas mitocôndrias, apresentando uma única forma. Entretanto os vertebrados e outros animais apresentam duas isoenzimas, sendo elas arginase I (presente no citosol) e arginase II (mitocondrial). A arginase I em mamíferos é encontrado principalmente no fígado; já a arginase II, está presente em diversos tecidos extra-hepáticos, como rins, próstata, intestino, glândulas mamárias e cérebro (COME, 2019). As duas isoenzimas utilizam de mecanismos semelhantes, mesmo cofator e mesmos metabólitos formados. Os íons de manganês (essenciais para atividade enzimática) participam da ativação de moléculas de água, formando hidróxido, que atuam como nucleófilos, atacando o substrato L-arginina.

Figura 2. Enzima arginase 4ity.



Fonte: Adaptado de D'Antonio et al., 2013.

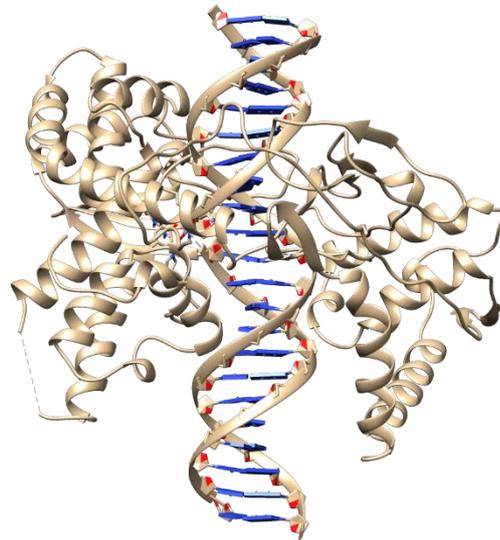
1.2.2 Topoisomerase

As enzimas topoisomerase apresentam papéis importantes na resolução de emaranhados de DNA (ácido desoxirribonucleico) durante a replicação, transcrição e processos de reparo. Seu mecanismo de ação se baseia em uma reação de transesterificação entre um resíduo de tirosina presente nas topoisomerases e a ligação fosfodiéster do DNA, induzindo quebras de fitas simples ou duplas dependendo do tipo de topoisomerase, I e II respectivamente (DAVIES et al., 2006; POMMIER, 2006; JORGE, 2012; TEJERÍA, 2016). Em específico a enzima topoisomerase IB (B é referente a uma subdivisão do tipo I) presente em parasitas da *Leishmania* são alvos promissores devido às seguintes razões: i) sua expressão aumenta durante o ciclo de divisão da leishmania e ii) apresenta diferença estrutural quando comparada à enzima homóloga do seu hospedeiro humano (DAVIES et al., 2006; POMMIER, 2006; POMMIER, 2009; TEJERÍA, 2016).

A inibição das topoisomerases pode ser classificada em dois grandes grupos: os venenos de topoisomerases e os inibidores catalíticos. Os venenos de topoisomerases aumentam o tempo de meia vida do complexo DNA-topoisomerase (Figura 3), consequentemente aumentando a ocorrência de quebras no DNA, interferindo na transcrição, replicação e levando à mutagênese e morte celular (POMMIER, 2006; POMMIER, 2009; JORGE, 2012); já os inibidores catalíticos

cessam a atividade das enzimas, inibindo a formação do complexo DNA-topoisomerase (JORGE, 2012).

Figura 3. Complexo DNA-topoisomerase 2b9s.



Fonte: Adaptado de Davies et al., 2006.

Além das enzimas arginase e topoisomerase existem outros alvos, tais como tripanotona redutase, dihidrofolato redutase, cisteína-protease B, pteridina redutase e entre outras (FIGUEIREDO et al., 2018). No entanto, para este trabalho foram selecionados os dois alvos detalhados anteriormente.

Devido à relevância da leishmaniose e seu impacto no Brasil, tanto a orientadora (RODRIGUES, 2017; TAKAHASHI, 2019) quanto o coorientador (ALECRIM, 2013) do trabalho têm trabalhado em estudos e desenvolvimento de novos compostos para atuarem no tratamento da leishmaniose. Diante destes trabalhos e estudos encontrados na literatura, torna-se evidente a importância de encontrar e compreender a atividade de novos fármacos com auxílio de estudos computacionais para o tratamento da leishmaniose, destacando que uma das metas da OMS é diminuir em 90% o número de pessoas que precisam de tratamento para doenças tropicais negligenciadas até o ano de 2030 (OMS, 2021). Este trabalho visou estudar a relação estrutural com atividade biológica (estudo teórico) para compostos que tem atividade contra Leishmania e compreensão dos mecanismos de interação ligante-receptor específicos.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Revisão bibliográfica de compostos orgânicos já descritos com atividade antileishmaniana testados em ensaios *in vitro*. Compreender as interações ligante-receptor utilizando compostos com atividade anti-*Leishmania in vitro* e as enzimas arginase e topoisomerase, e planejar novos compostos que possam inibir essas enzimas, onde serão considerados como alvo para o desenvolvimento racional de fármacos para a leishmaniose.

2.2 Objetivos específicos

- Compreender as interações ligante-receptor por meio de ferramentas de química computacional utilizando as enzimas topoisomerase e arginase (do parasita e humana);
- *Docking* molecular do banco de moléculas NuBBE nos alvos enzimáticos;
- Desenho de novos compostos que possam atuar no tratamento da leishmaniose (desenho de ligantes) como base nos dados obtidos no presente estudo;
- Sintetizar e testar análogo ao ácido cinâmico (molécula 31 NuBBE) e realizar dinâmica molecular para avaliação do comportamento conformacional ao longo do tempo de simulação.

3 METODOLOGIA

O presente estudo foi dividido em 6 etapas:

- I- Revisão bibliográfica de compostos já estudados que apresentam atividade inibitória contra arginase (*Leishmania amazonensis*) e contra Topoisomerase (*Leishmania infantum*);
- II- Preparo dos ligantes para *docking*, otimização de geometria por meio do software Avogadro;
- III- Preparo das macromoléculas para *docking*, tanto arginase como topoisomerase;
- IV- Estudos de *docking* molecular (somente o ligante é considerado como flexível) por meio dos dados obtidos dos estudos dos ligantes e das macromoléculas;
- V- *Docking* na arginase do banco de moléculas naturais e semi-sintéticas dispostos na base de dados do NuBBE (Núcleo de Bioensaios Biossíntese e Ecofisiologia de Produtos Naturais).
- VI- Desenho de análogo (possível inibidor) para arginase, posteriormente realizar síntese deste análogo, ensaios biológicos (antiparasitários citotóxicos) e simulação de dinâmica molecular.

3.1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Revisão bibliográfica de compostos orgânicos com atividade leishmanicida com atividade *in vitro* contra arginase do parasita *Leishmania amazonensis* e contra Topoisomerase do parasita *Leishmania infantum*. A pesquisa foi realizada na plataforma SciFinder (CAS) utilizando como palavras-chave *Leishmania* e antileishmania juntamente com os respectivos alvos, topoisomerase e arginase, no período entre 19 de março a 31 de dezembro de 2019.

3.2 LIGANTES

Desenhos das estruturas dos ligantes 2D usando o software ChemDraw Ultra 12.0 (COUSINS, 2011), posteriormente convertido para o formato MOL para a leitura do software de otimização geométrica, Avogadro 1.2.0 (HANWELL et al., 2012).

Nesta etapa de otimização foi escolhido o campo de força MMFF94, duas otimizações por molécula foram realizadas a primeira com algoritmo *Steepest Descent* e a segunda com algoritmo *Conjugate Gradients*. E esta etapa foi finalizada convertendo os arquivos no formato pdbqt usado no software AutoDockTools 1.5.6 (SANNER, 1999) para realizar o *docking* molecular.

3.3 MACROMOLÉCULAS

3.3.1 Topoisomerase humana

A estrutura do complexo enzima-DNA foi obtida no PDB (BERMAN et al., 2000) referente a Topoisomerase humana com seu respectivo código 1t8i. A estrutura foi editada retirando as moléculas de água e convertendo no formato pdbqt para realizar o *docking* (AutoDock) nas etapas seguintes. É necessário validar utilizando a técnica de *redock* que consiste em retirar o ligante da estrutura cristalina (estrutura PDB), aplicar o *docking* com mesmo ligante e, posteriormente, é realizada uma sobreposição do ligante referente ao PDB (posição e conformação encontrada no banco de estruturas de enzimas) e o ligante após aplicar *docking* molecular, avaliando de acordo ao valor de RMSD (*Root Mean Square Deviation*) sendo este parâmetro devendo ser inferior a 2 Å (COLE et al., 2005), valor arbitrário mais utilizado como parâmetro de avaliação. Para *docking* dos ligantes de referência (compostos com atividade *in vitro*) foram geradas 100 conformações usando o algoritmo de busca chamado de algoritmo genético e considerando somente o valor de maior afinidade para cada complexo enzima-ligante. A caixa do *docking* apresenta os seguintes valores de centro iguais a 22,477; -2,101 e 28,062, dimensões iguais a 70 x 70 x 70 Å, e espaçamento de 0,375 Å.

Como existe dois modos de inibição da atividade das topoisomerases (inibição enzimática e veneno de topoisomerase) também foi utilizado a enzima humana sem o DNA (editando o complexo enzima-DNA), usando os mesmos parâmetros citados acima.

3.3.2 Topoisomerase *Leishmania donovani*

A estrutura do complexo enzima-DNA foi obtida no PDB (BERMAN et al., 2000) referente a Topoisomerase *Leishmania donovani* com seu respectivo código 2b9s. A estrutura foi editada retirando as moléculas de água e convertendo no formato pdbqt para realizar o *docking* nas etapas seguintes. Nesta enzima não é possível fazer a validação por *redock*, pois não apresenta ligante na estrutura cristalina. Para o *docking* dos ligantes de referência foram geradas 100 conformações (ligante) usando o algoritmo de busca chamado de algoritmo genético e considerando somente o valor de maior afinidade. A caixa do *docking* apresenta os seguintes valores de centro iguais a 35,146; 47,627 e 8,988, dimensões iguais a 126 x 126 x 126 Å, e espaçamento de 0,375 Å.

Como existe dois modos de inibição da atividade das topoisomerasas também foi utilizado a enzima *Leishmania donovani* sem o DNA (editando o complexo enzima-DNA), usando as mesmas configurações citadas acima.

3.3.3 Arginase humana

As estruturas das enzimas humanas foram obtidas no PDB (BERMAN et al., 2000) referente a Arginase I e Arginase II, seus códigos são respectivamente 6v7c e 4i06. Ambas as estruturas foram editadas retirando moléculas de água e convertendo no formato pdbqt para realizar o *docking*. É necessário validar utilizando a técnica de *redock*, avaliando de acordo ao valor de RMSD. Foram geradas 100 conformações (ligante) usando o algoritmo de busca chamado de algoritmo genético e considerando somente o valor de maior afinidade. A caixa do *docking* apresenta os seguintes valores de centro iguais a 15,719; 4,734 e 22,792, dimensões iguais a 50 x 50 x 60 Å, e espaçamento de 0,375 Å. E para a enzima 4i06 os valores do centro são 33,783; 85,821 e 71,396, e dimensões de 40 x 40 x 50.

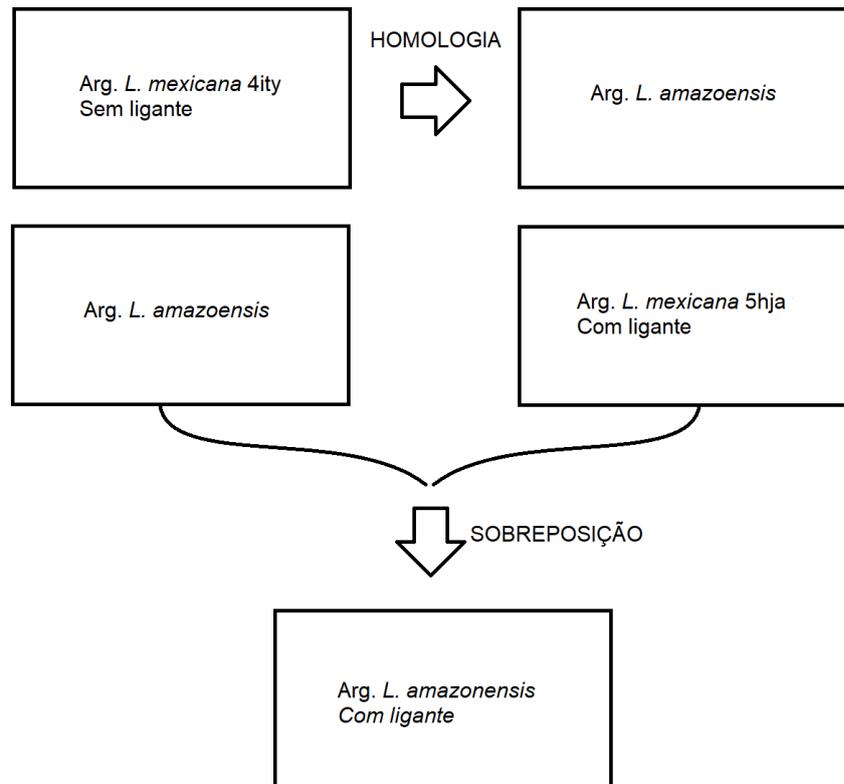
3.3.4 Arginase *Leishmania amazonensis*

Arginase do parasita *Leishmania amazonensis* não apresenta estrutura definida no banco de estruturas (BERMAN et al., 2000), desta forma é necessário utilizar a técnica de modelagem por homologia, onde é preciso ter uma estrutura da

arginase elucidada (4ity) com alto grau de identidade, alinhamento de sequência de aminoácidos maior ou igual a 25% (SANTOS FILHO; ALENCASTRO, 2003), com a enzima *amazonensis* sem estrutura definida. Foi escolhido a enzima O96394, referente ao código da arginase *amazonensis* obtida no banco de sequências de aminoácidos UNIPROT. A modelagem foi realizada na plataforma SWISS-MODEL, o resultado analisado de acordo com os parâmetros utilizados pela própria plataforma para avaliar a qualidade do modelo gerado.

O molde utilizado (4ity *Leishmania mexicana*) não tem nenhum ligante no sítio ativo, o motivo para escolher esta estrutura está relacionado à não alteração na conformação da enzima, logo sem influência de um ligante gerando um bom modelo tridimensional da arginase *amazonensis*. Entretanto, é necessário um ligante, tratado como referência, no processo de validação (redock). Para a validação foi feito uma sobreposição da estrutura cristalina do modelo gerado (*amazonensis*) com outra estrutura de arginase mexicana (código 5hja) com mesma sequência de aminoácidos da enzima 4ity (mesma enzima), entretanto com um ligante. Desta forma, é obtido um ligante tratado como referência na validação do *docking* molecular (Figura 4) e somente o valor de maior afinidade é considerado. A caixa do *docking* apresenta os seguintes valores de centro iguais a -22,983; 1,203 e -8,964, dimensões iguais a 60 x 60 x 60 Å, e espaçamento de 0,375 Å. Foram geradas 100 conformações (ligante) para usando o algoritmo de busca chamado de algoritmo genético.

Figura 4. Esquema para obtenção de um ligante de referência para *redock*.



Fonte: Autor, 2021.

3.4 DOCKING MOLECULAR DE REFERÊNCIA

Após todas as enzimas terem sido validadas usando *redock* a próxima etapa é o *docking* molecular de todas as moléculas (tratadas como referência) encontradas na literatura que apresentam atividade *in vitro*, levando em consideração as caixas do *docking* com os valores de configuração já citados e 100 conformações geradas para cada ligante. Os resultados foram avaliados pelos valores de afinidade com a enzima e as interações ligante-receptor.

3.5 DOCKING MOLECULAR DO BANCO DE MOLÉCULAS NUBBE

O banco de moléculas naturais e semi-sintéticas foi submetido submetidas ao *docking* molecular na enzima arginase referente a leishmania amazonensis, estrutura obtida da modelagem por homologia. As estruturas das moléculas foram obtidas pela base de dados do NuBBE (VALLI et al., 2013; PILON et al., 2017), no total de 2223 moléculas com diversidade de classes químicas. Para considerar diversidade química das moléculas do NuBBE não foi utilizada nenhuma etapa de

filtragem destas moléculas. Devido o número elevado de moléculas apenas 10 conformações foram geradas para cada ligante, de forma a diminuir o custo computacional. Após a obtenção das afinidades de todas as moléculas foram filtradas somente as moléculas que apresentam valores de afinidade igual ou menor que -8 kcal/mol (com atividade *in vitro*) obtida no *docking* contra arginase *L. amazonensis*, estas moléculas foram submetidas novamente ao *docking*, entretanto gerando 50 conformações, de forma a melhorar a probabilidade de encontrar conformações de mínimos globais de afinidade. Para diminuir ainda mais o número de moléculas foi utilizado outro filtro, este considerando moléculas com afinidades igual ou inferior a -10 kcal/mol, as moléculas que passaram por esse filtro foram ancoradas novamente com a arginase *L. amazonensis* e também contra as duas arginases humanas, entretanto o número de conformações geradas para cada ligante nessa etapa foi de 100. Os valores de afinidades tratados como filtro são valores arbitrários que apresentaram número significativos de moléculas após a “passagem” do filtro, moléculas com afinidades superiores às moléculas de referencia inibitória contra arginase *Leishmania amazonensis*.

3.6 DESENHO DE INIBIDORES

Com os resultados de *docking* molecular é possível compreender os modos de interação dos ligantes com seus respectivos receptores, indicando características estruturais (ligantes) que favorecem uma melhor interação ligante-enzima. Desta forma, usando os dados obtidos, *docking* molecular referência (atividade enzimática comprovada) e *docking* do banco de moléculas NuBBE, é possível propor estruturas de possíveis inibidores, pensando em rotas sintéticas viáveis para suas sínteses. Sendo assim, análogos ao ácido cinâmico (31 NuBBE) foram testadas em ensaios *in silico* (*docking* molecular) para a validação dos possíveis inibidores. O parâmetro utilizado para a escolha do análogo a ser sintetizado foi o valor de afinidade mais negativo (maior afinidade) com a enzima arginase (*L. amazonensis*).

3.6.1 Síntese do composto planejado racionalmente:

3.6.1.1 Reagentes e solvente:

- *p*-anisidina (CAS nº 104-94-4)
- Ácido cinâmico (CAS nº 140-10-3)
- 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC) (CAS nº 22572-40-3)
- DMAP (CAS nº 1122-58-3)
- Clorofórmio HPLC (CAS nº 67-66-3)
- Acetato de Etila (PA) (CAS nº 141-78-6)
- Hexano (PA) (CAS nº 110-54-3)
- Metanol (MeOH) (CAS nº 67-56-1)

3.6.1.2 Cromatografia:

3.6.1.2.1 Cromatografia em camada delgada (CCD):

Os experimentos de cromatografia em camada delgada comparativa (CCD) foram realizados utilizando placas comerciais de sílica gel 60 com indicador de fluorescência (UV254) 0,20 mm de espessura (Macherey-Nagel). As placas foram reveladas por inspeção em câmara de UV (254 nm).

3.6.1.2.2 Cromatografia em coluna:

O processo de coluna cromatográfica foi realizado em coluna aberta utilizando a sílica gel (SiO₂) para cromatografia flash (40–63µm, diâmetro de poro 60 Å – Aldrich) como fase estacionária e um gradiente de solvente entre hexano e acetato de etila configurando a fase móvel que promove a separação.

3.6.1.3 Ressonância magnética nuclear:

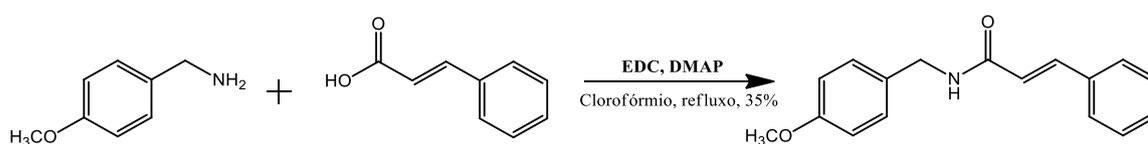
As análises de ressonância magnética nuclear foram realizadas no IQ-UFU, campus de Santa Mônica utilizando o equipamento: Espectrômetro de ressonância

magnética nuclear (RMN) Bruker modelo Ascend™ 400 Avance III HD (9,2 Tesla) do laboratório multiusuário do Instituto de Química da UFU, operando em frequências de 400 e 100 MHz para os núcleos de hidrogênio e carbono, respectivamente. Os experimentos foram realizados a 25 °C.

3.6.1.4 Metodologia para a síntese do composto IV

A metodologia geral de acoplamento a fim de obter amidas (Figura 5) se baseia no trabalho de Kim e colaboradores (2005). Foram utilizados 150 mg de *p*-metóxi-benzilamina (1,09 mmol), 323 mg de ácido trans cinâmico (2,18 mmol), 266 mg de DMAP (2,18 mmol), 423 mg de EDC (2,72 mmol), e clorofórmio como solvente. Os reagentes (exceto o EDC) foram adicionados em um balão reacional juntamente ao solvente, a mistura reacional foi então colocada sob vigorosa agitação até a completa dissolução dos reagentes adicionados, após a solubilização da amina juntamente com o ácido carboxílico e o DMAP, a solução de EDC em clorofórmio foi gotejada no meio reacional o qual foi submetido ao refluxo por 2 horas. A reação foi cessada com água destilada e realizadas três extrações de 15 mL com acetato de etila. O desenvolvimento da reação foi acompanhado por cromatografia em camada delgada (CCD) utilizando sílica como fase estacionária e hexano/AcOEt (6:4) como fase móvel. As cromatoplasmas foram analisadas por irradiação ultravioleta. O produto obtido foi purificado por cromatografia em coluna utilizando sílica como fase estacionária (15 × 2,5 cm, d.i.). A eluição foi realizada em modo gradiente utilizando hexano/AcOEt (9:1) até 100% de acetato de etila. Produto obtido em 35% de rendimento.

Figura 5. Reação para obtenção do produto IV.



Fonte: Autor, 2022.

3.6.2 Ensaios de viabilidade em células HepG2 e parasitos do gênero *leishmania*

Nos ensaios conduzidos utilizamos *L. infantum* cepa MCAN/BR/2002/BH401 e *L. amazonensis* cepa MHOM/BR/1989/Ba199, referências da OMS e células derivadas de um hepatoblastoma primário, HepG2 A16.

A concentração inibitória (CI_{50}) do composto para promastigotas de *L. infantum* e *L. amazonensis* foi avaliada por ensaio de viabilidade celular à base de resazurina (CORRAL et al., 2013). Promastigotas em fase logarítmica de crescimento ($2,5 \times 10^5$ parasitos/poço) foram semeadas em placas de 96 poços em meio α -MEM completo (*Minimum Essential Medium Eagle* (Sigma Aldrich Inc., EUA), suplementado 20mM de HEPES, 10% de soro bovino fetal (SFB), 2mM de L-glutamina, 100U/mL de penicilina e 100 μ g/mL de estreptomicina) e incubadas a 26°C em atmosfera de 5% de CO₂ (CO₂ Incubator MCO-19IAUV-PA, Panasonic Corp., Japão). O composto foi diluída em meio α -MEM completo na faixa de concentração de 300 a 0,3 μ g/mL, e a anfotericina b foi usada como controle positivo de tratamento. Parasitos não tratados foram utilizados para comparação de viabilidade (controle negativo). Os compostos em contato com os parasitos foram incubadas durante 48 h. Quatro horas antes do término da incubação, foi adicionada solução de resazurina a 10% v/v (Sigma-Aldrich Inc., EUA) nos poços e as placas mantidas por mais 4h a 26°C em atmosfera de 5% de CO₂. Em seguida, a intensidade de fluorescência (Spectramax M2, Molecular Devices LLC, EUA) foi determinada utilizando os seguintes comprimentos de ondas: 550 nm de excitação e 590 nm de emissão. A intensidade de fluorescência, expressa em unidades arbitrárias, foi utilizada para o cálculo da viabilidade celular.

A CI_{50} é a concentração dos compostos testes capazes de gerar redução de 50% no crescimento dos parasitos, refletindo em uma redução de 50% no valor da intensidade de fluorescência nos ensaios de resazurina, em relação ao controle (parasitos incubados com α -MEM completo, considerado 100% de viabilidade), calculada por análise de regressão.

A linhagem celular HepG2 A16, derivada de um hepatoblastoma primário humano, foi incubada (37°C, 5% de CO₂, 24 horas) em placa de 96 poços, em concentração ajustada para 5×10^5 células/poço em meio RPMI completo, para aderência aos poços. Após o período de incubação, o meio dos poços foi esgotado e

adicionado os compostos testes diluídos em RPMI completo nas concentrações de 600 a 1 µg/mL. As culturas de células permaneceram expostas à droga durante 48 horas (37°C, 5% de CO₂). Após o período de incubação, os poços foram esgotados, e foi adicionada solução MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazol) (Sigma Aldrich Co, EUA) 50 µg/poço. As placas foram incubadas por 1 hora e 30 minutos (37°C, 5% de CO₂). Passado esse período foi adicionado DMSO para solubilizar os cristais de formazan gerados, e as placas foram submetidas à leitura em espectrofotômetro (570nm) (MOSMANN, 1983; DUTTA et al., 2005).

A concentração citotóxica (CC₅₀) corresponde a concentração dos compostos testes capazes de gerar redução de 50% no crescimento das células, refletindo em uma redução de 50% no valor da DO (densidade ótica) nos ensaios de MTT em relação ao controle, calculada por análise de regressão linear a partir dos dados obtidos em cada experimento.

O índice terapêutico (IT) foi determinado pela razão CC₅₀/CI₅₀.

3.6.3 Simulação de dinâmica molecular: protocolo de simulação

Todas as simulações foram realizadas pelo pacote GROMACS versão 2016.4 (ABRAHAM et al., 2015) e com campo de força OPLS (JORGENSEN; MAXWELL; TIRADO-RIVES, 1996).

1. Os complexos provenientes do processo de ancoragem foram colocados em uma caixa com 80Å de lado e íons foram adicionados para garantir a eletroneutralidade;
2. Um processo de otimização de geometria foi realizado para eliminar possíveis contatos indesejados entre os átomos do sistema. Esse processo foi realizado por 50000 passos ou até que a força sobre os átomos fosse menor que 1000 kJ/mol/nm, com passos 0,01;
3. Com o sistema minimizado, dois processos de equilíbrio foram realizados: um deles no ensemble NVT (número de partículas, volume e temperatura como variáveis de controle) e o outro no ensemble NPT (no qual o volume foi trocado pela pressão). Em ambos o passo de tempo foi de 0,0008ps e um total de 125000 passos foram realizados; para o tratamento da parte eletrostática foi utilizado o método PME (DARDEN; YORK; PEDERSEN, 1993; ESSMANN; PERERA; BERKOWITZ, 1995) com raio de Coulomb de

1,0nm; a temperatura foi elevada de 0K a 300K em uma rampa de aquecimento, para evitar a formação de *hot spots* no solvente, com tempo de elevação de 0,5ps para cada Kelvin; a pressão foi mantida constante em 1bar pelo barostato de Berendsen (BERENDSEN et al., 1984).

4. Após os processos de equilibração, foi realizado o passo de produção das trajetórias em temperatura de 310K por 100ns, com passo de tempo de 0,001ps com o algoritmo leap-frog (HOCKNEY; GOEL; EASTWOOD, 1974); a temperatura foi mantida constante pelo método acoplado de reescalador de velocidades (BUSSI; DONADIO; PARRINELLO, 2007) e a pressão, pelo barostato de Parrinello-Raman (PARRINELLO; RAHMAN, 1981).

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA TOPOISOMERASE

Pela revisão bibliográfica foi possível encontrar 17 moléculas com atividade inibitória da topoisomerase que estão representadas na Tabela A (ANEXO A), com as seguintes informações: nome das moléculas, forma de obtenção (sintética ou natural), CI_{50} , tipo de gênero parasitário e a referência utilizada. Todas as moléculas foram testadas contra topoisomerase (*docking* molecular) do parasita *Leishmania donovani*.

4.2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA ARGINASE

Pela revisão bibliográfica foi possível encontrar 60 moléculas com atividade inibitória da arginase que estão representadas na Tabela B (ANEXO B), com as seguintes propriedades: nome das moléculas, forma de obtenção (sintética ou natural), CI_{50} (metade da contração inibitória máxima) e a referência utilizada. Todas as moléculas foram testadas contra arginase (*docking* molecular) do parasita *Leishmania amazonensis* e arginases humanas.

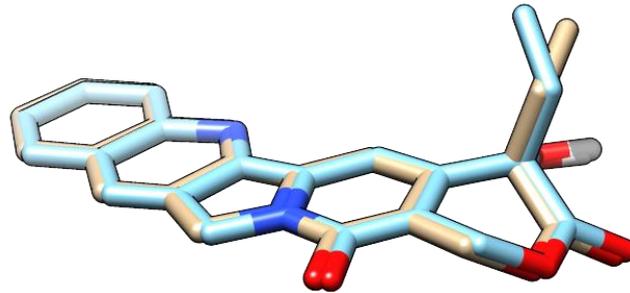
4.4 DOCKING MOLECULAR DE REFERÊNCIA

4.4.1 Topoisomerase

O resultado do *redock* da enzima topoisomerase humana de (1t8i) foi satisfatório, apresentando boa sobreposição com pequenas alterações na posição da metila (Figura 6), indicando que o *docking* molecular para este receptor é preciso quando comparado a posição do ligante obtido na cristalografia (RMSD de 0,28). A camptotecina (molécula 17) ligante da estrutura cristalográfica apresenta interações ligante-receptor (Figura 7) com os seguintes resíduos da enzima Arg364 e Asp533 interagindo por ligação de hidrogênio e Asn722 por ligação de hidrogênio não convencional, carbono parcialmente positivo se comportando como doador de ligação de hidrogênio. Os ácidos nucleicos que apresentam interações são DC112 (citosina) e DA113 (adenina), e os outros dois restantes, DT10 (timina) e DA11

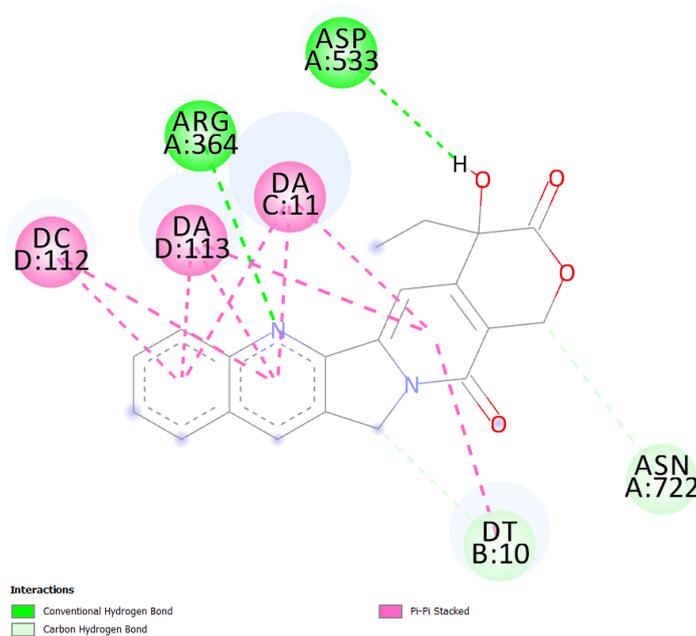
(adenina sem o grupo fosfato) são os ácidos nucleicos que romperam entre si pela atividade enzimática da topoisomerase, onde o DT10 ficou ligado com o resíduo de Tyr723 responsável pela quebra da fita do DNA.

Figura 6. Sobreposição referente ao ligante 17 (camptotecina) da enzima topoisomerase I humana.



Referência: molécula de cor bege.
 Docking: molécula de cor azul.
 RMSD: 0,28.
 Fonte: Autor, 2021.

Figura 7. Interações camptotencina com a enzima topoisomerase I humana.

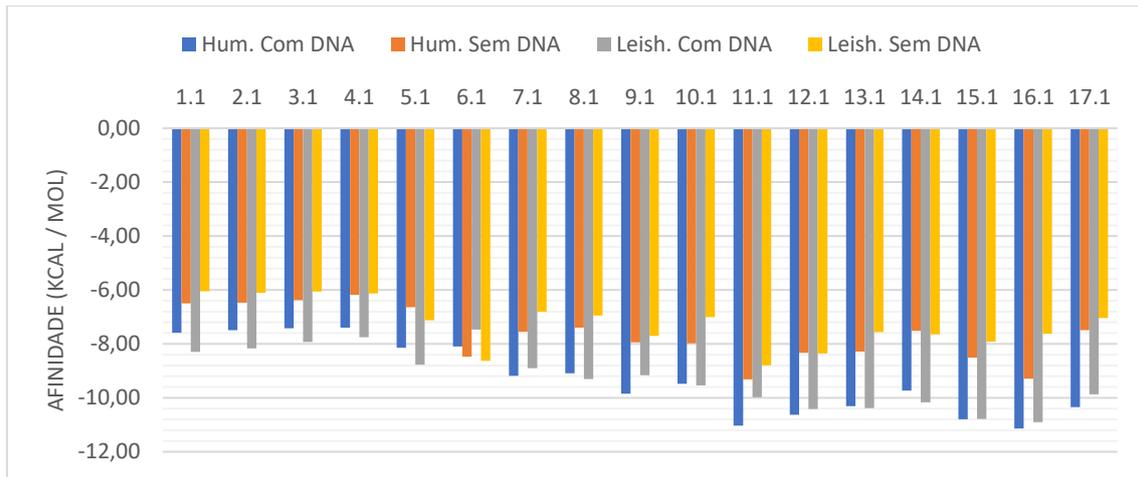


Fonte: Autor, 2021.

Devido à limitação das estruturas elucidadas foi escolhida a enzima 2b9s do PDB referente à enzima topoisomerase *donovani*, pois, no momento da análise, não havia estrutura elucidada referente a *Leishmania infantum*. Entretanto como ambas podem causar leishmaniose visceral, justifica-se a utilização da enzima *L. donovani* para os compostos encontrados na literatura com o objetivo de auxiliar na

compreensão das interações ligante-receptor para futuros fármacos contra leishmaniose visceral. A Figura 8 mostra todas as afinidades das moléculas já testadas *in vitro* contra topoisomerase I.

Figura 8. Valores do score dos *dockings* para a enzima topoisomerase I de moléculas testadas *in vitro*.



Fonte: Autor, 2021.

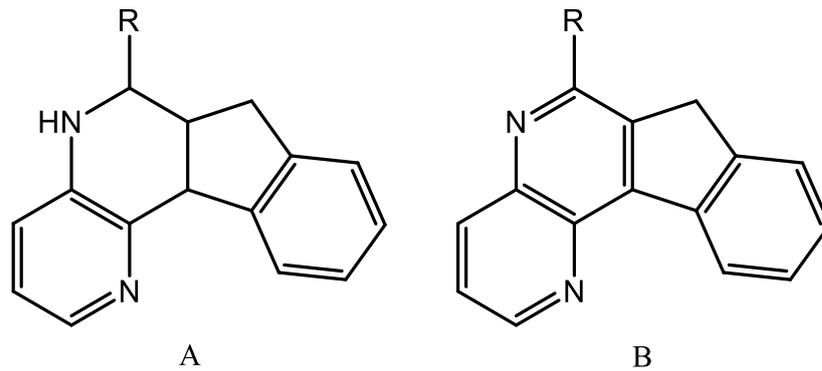
As moléculas (1.1-12.1) ativas para topoisomerase foram testadas tanto para leishmania quanto para sua homóloga humana (estudos *in vitro*), sendo que somente cinco (2.1, 4.1, 5.1, 9.1 e 10.1) apresentaram seletividade para *L. infantum* (Tabela 2, valores de CI_{50}), não inibindo a enzima topoisomerase humana, de acordo com Tejería e colaboradores (2016). Quando comparados os valores de afinidade pelo sítio ativo da enzima somente um dos casos (molécula 9.1) não apresentou valor esperado para diferenciação da inibição. As outras quatro moléculas seletivas para Leishmania topoisomerase apresentaram valores de afinidade (*docking*) superiores em relação aos valores para topoisomerase humana. A molécula 6.1 na enzima humana (com e sem DNA) apresenta valores próximos, e é a única molécula que tem mais afinidade pela enzima ao invés do complexo enzima-DNA tanto para humana quanto para *L. donovani*, logo este resultado sugere a possibilidade de inibição na forma enzimática e também na forma de veneno de topoisomerase, ambas formas de inibição.

Tabela 2 Valores de CI_{50} para as enzimas topoisomerase moléculas 1.1-12.1.

Moléculas (grupo)	CI_{50} ($\mu\text{mol/L}$) Humana	CI_{50} ($\mu\text{mol/L}$) <i>L. infantum</i>
1.1 A	46,55	45,21
2.1 A	nenhuma	48,96
3.1 A	22,35	60,59
4.1 A	nenhuma	41,75
5.1 A	nenhuma	21,77
6.1 A	10,72	100,01
7.1 B	87,69	14,66
8.1 B	27,46	23,62
9.1 B	nenhuma	29,5
10.1 B	nenhuma	14,12
11.1 B	31,56	42,32
12.1 B	83,39	28,14

As moléculas de 1.1 a 12.1 podem ser separadas em dois grupos, como mostrado na Figura 9: grupo A (1.1-6.1), das moléculas que apresentam dois anéis aromáticos e um substituinte (R); e grupo B (7.1-12.1), das que apresentam duas duplas a mais que o grupo A, resultando em três anéis aromáticos. O segundo grupo apresenta uma maior aromaticidade, logo moléculas mais planares em comparação ao primeiro. Comparando o tipo de grupo (A ou B) com a inibição (TEJÉRIA et al., 2016) é possível perceber que na inibição da enzima humana três moléculas do grupo A e duas do grupo B não tiveram inibição enzimática e, na enzima topoisomerase *L. infantum* há melhores inibições no grupo B. Assim a aromaticidade está atrelada a uma maior afinidade pela topoisomerase mais especificamente aumentando possibilidades de compostos atuarem por intercalação na quebra de uma fita de DNA, pois os venenos de topoisomerase intercalantes são mais ativos clinicamente (NITISS, 2009; POMMIER, 2016).

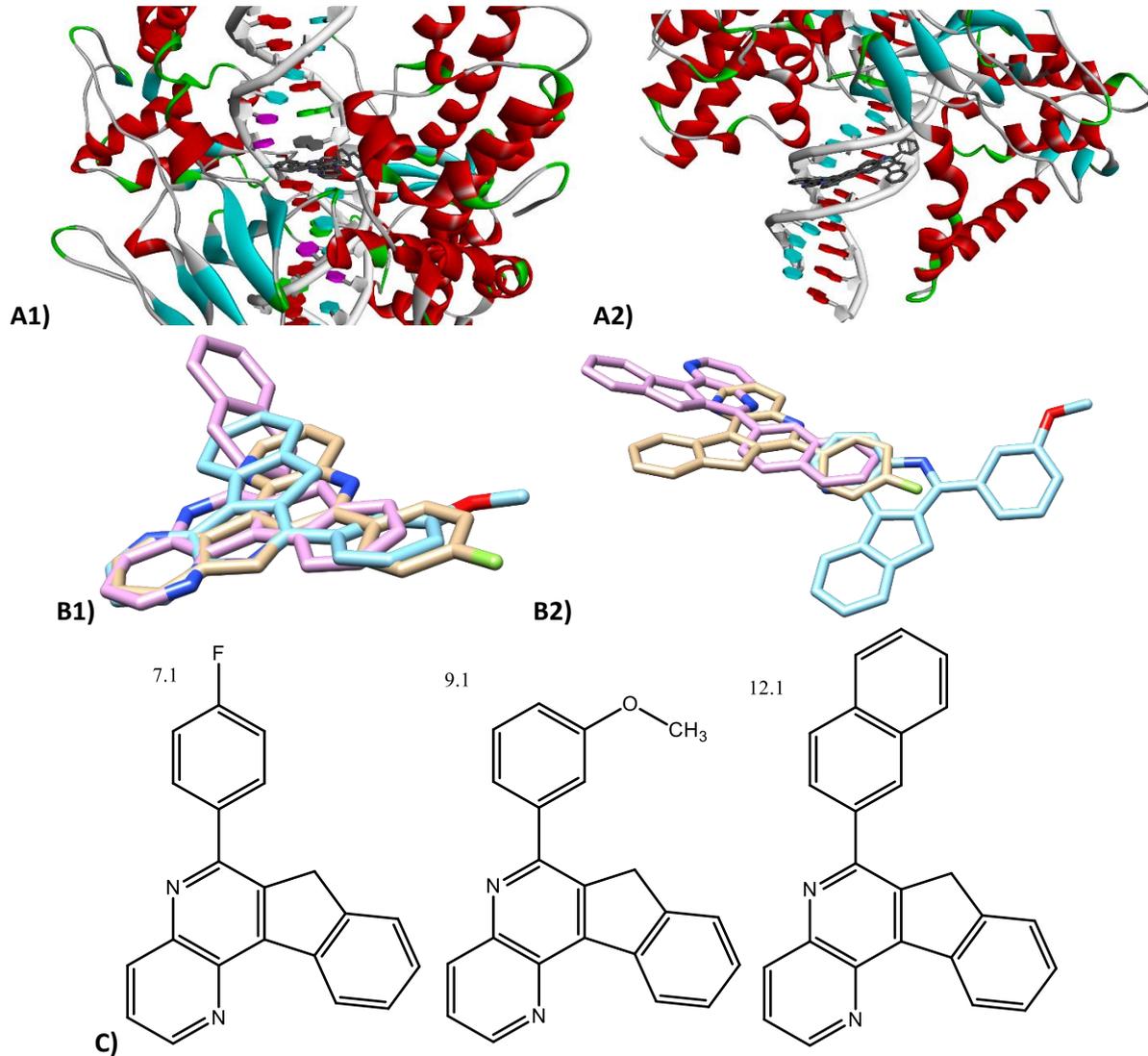
Figura 9. Grupos das moléculas 1.1-12.1.



A B
 Fonte: Adaptado de Tejería et. al, 2016.

Nas três moléculas, 7.1, 9.1 e 12.1 (classe B), os valores de afinidade para a enzima topoisomerase *L. infatum* deveriam ser maiores do que foi obtido (se existisse correlação direta entre score obtido e a resposta inibitória), pois a inibição (*in vitro*) foi maior (IC_{50} menor) em comparação à humana. Estas moléculas estão dispostas na mesma região (Figura 10) em ambas as enzimas, enzima humana com DNA e *L. donovani* com DNA. Na enzima humana sua interação é de intercalação (Figura 11), de acordo com autor Jorge (2012), e interage entre as bases nitrogenadas, onde ocorreu a quebra de uma das fitas do DNA. Possivelmente essas moléculas se comportam como veneno de topoisomerase, aumentando o tempo do complexo enzima-DNA; já na enzima da Leishmania, apresenta interação chamada de *groove* onde interagem com os sulcos do DNA (BARRA; NETTO; 2015).

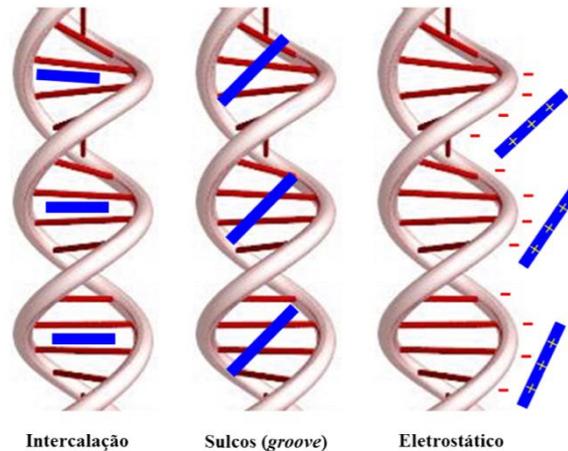
Figura 10. Moléculas 7.1, 9.1 e 12.1 sobrepostas nas topoisomerases.



Complexo enzima-DNA topoisomerase humana (1t8i) e *L. donovani* (2b9s), respectivamente.
 A) Complexos com com ligantes sobrepostos. A1) Topoisomerase Humana. A2) Topoisomerase Leishamia. B) Destaque nas sobreposições. B1) Topoisomerase Humana. B2) Topoisomerase Leishamia. C) Estruturas das moléculas.

Fonte: Autor, 2021.

Figura 11. Interações não-covalentes com DNA.

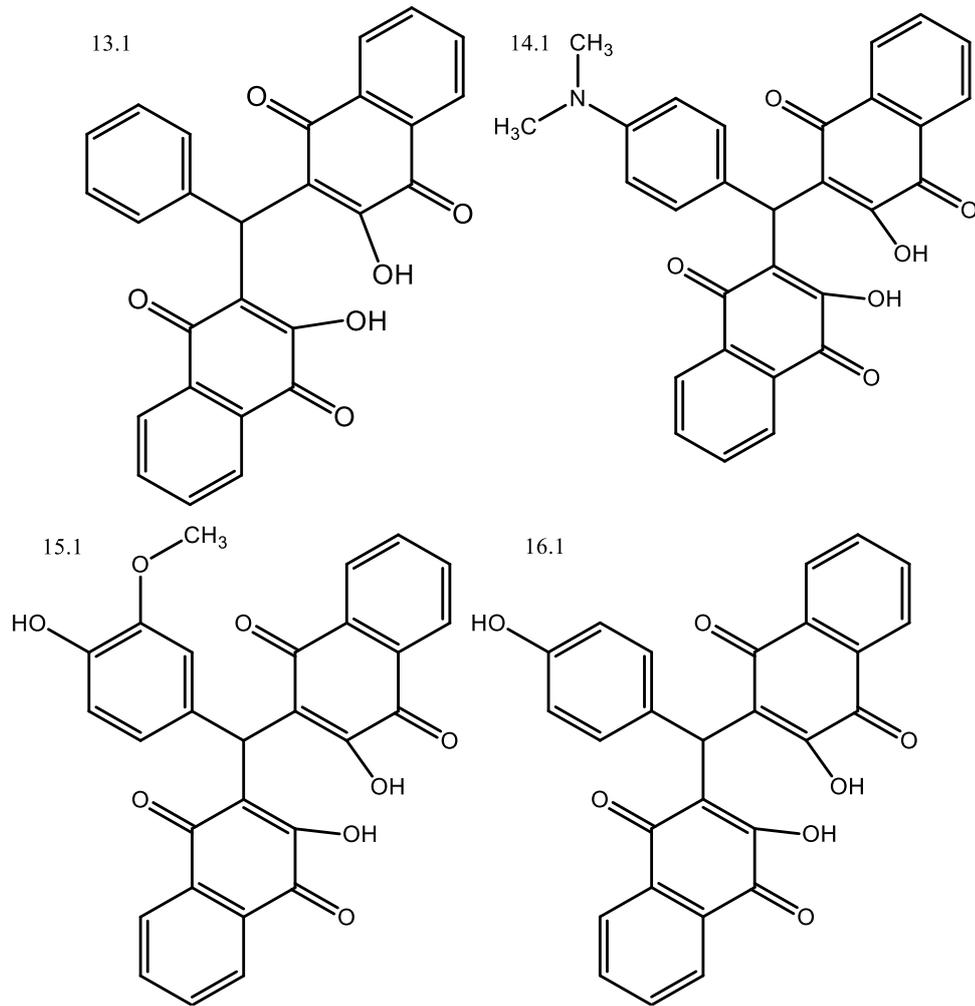


Fonte: Adaptado de Barra e Netto, 2015.

Devido à limitação das estruturas cristalográficas referente à enzima humana e *L. donovani* estarem em momentos diferentes da catálise para a inibição das topoisomerasas (enzima humana com a fita do DNA já rompida e enzima *L. donovani* a fita não foi rompida), espera-se que nestes casos (7.1, 9.1 e 12.1) possam apresentar uma interação mais forte se tivéssemos a enzima *L. donovani* com a fita de DNA rompida. Por essa limitação e a falta de um ligante de referência na cristalografia, a caixa usada no *docking* apresenta dimensões superiores (126 x 126 x 126 Å) às outras enzimas com o objetivo de analisar as afinidades das moléculas nas regiões internas da enzima que têm contato com o DNA.

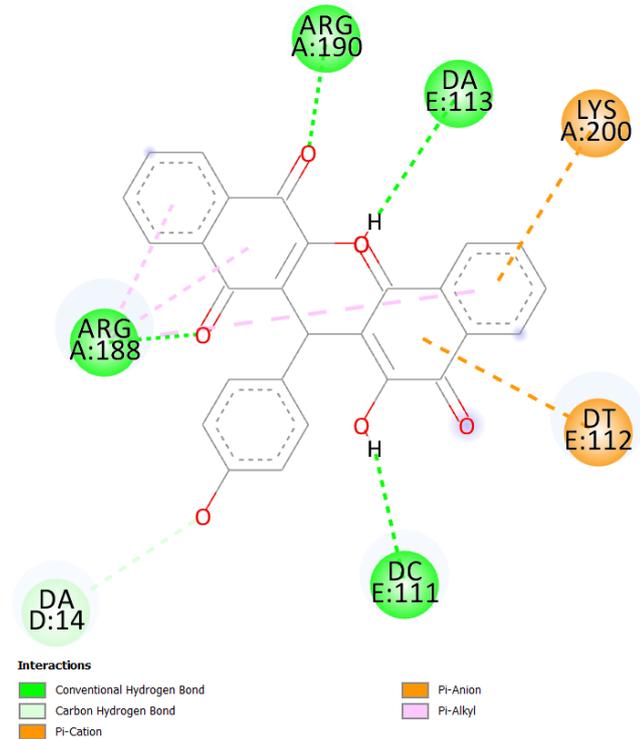
As moléculas 13.1-16.1 (Figura 12) são derivadas de 3,3-(arilmetileno)bis(2-hidroxi-naftaleno-1,4-diona) que se destacaram nos valores de inibição para *L. donovani* quando comparados às outras moléculas. Como mostrado na Figura 13, as interações da molécula 16.1 com a *L. donovani* apresenta mais pontos de interações de ligação de hidrogênio em comparação as outras moléculas, sendo Arg188 e Arg190 resíduos de aminoácidos da enzima e também os ácidos nucleicos DC111 e DA113, assim contribui no aumento do tempo de meia vida do complexo DNA-topoisomerase podendo levar a mutagênese e morte celular do parasita. Todas as 4 moléculas (13.1-16.1) estão sobrepostas (Figura 14) entre si em uma região interna no complexo enzima-DNA interagindo com ambas macromoléculas, possivelmente este grupo se comporta como veneno de topoisomerase não intercalante devido sua pouca planaridade.

Figura 12. Estruturas das moléculas 13.1-16.1.



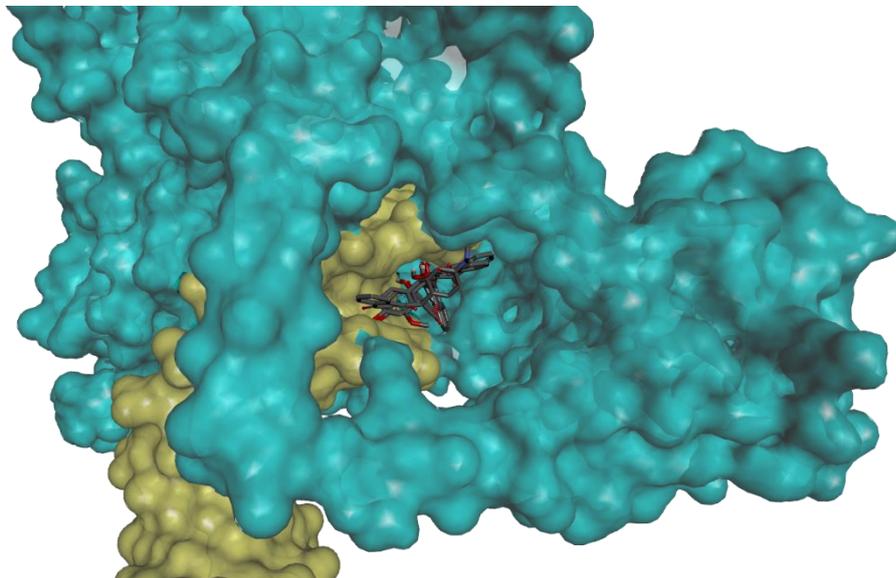
Valores obtidos de Cl_{50} ($\mu\text{mol/L}$) para moléculas 13.1, 14.1, 15.1 16.1 foram 51,01; 37,50; 74; e 70 respectivamente.
 Fonte: Autor, 2021.

Figura 13. Interações da molécula 16.1 com a topoisomerase *L. donovani*.



Fonte: Autor, 2021.

Figura 14. Complexo *L. donovani* topoisomerase-DNA e as moléculas 13.1-16.1.



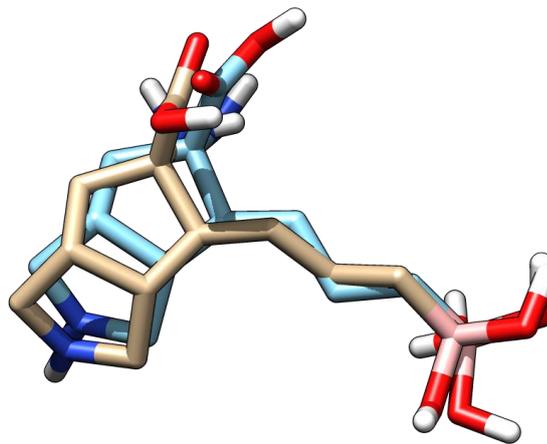
Superfície ciano: enzima.
Superfície amarela: DNA.
Fonte: Autor, 2021.

Devido às limitações da estrutura referente a enzima *L. donovani* já citadas anteriormente, as enzimas topoisomerase não foram utilizadas na triagem do banco de moléculas NuBBE (VALLI et al., 2013; PILON et al., 2017).

4.4.2 Arginase

O resultado do *redock* da enzima arginase humana I (código PDB 6v7c) foi satisfatório, boa sobreposição (RMSD de 1,06) com algumas alterações como por exemplo na disposição do oxigênio e a hidroxila da carbonila (Figura 15), com rotação de ligação carbonila-carbono de aproximadamente 180°, assim o *docking* molecular para este receptor é preciso quando comparado a posição do ligante obtido na cristalografia. O ligante do receptor 6v7c (humana I) apresenta interações ligante-receptor com os seguintes resíduos de aminoácidos Asp128, Asn130, His141, Asp181 e Glu186 interagindo por ligação de hidrogênio, His126 e His141 com interação mais fraca e por último as interações com os íons de manganês (cofator), (Figura 16).

Figura 15. Sobreposição referente ao ligante da enzima arginase I humana 6v7c.



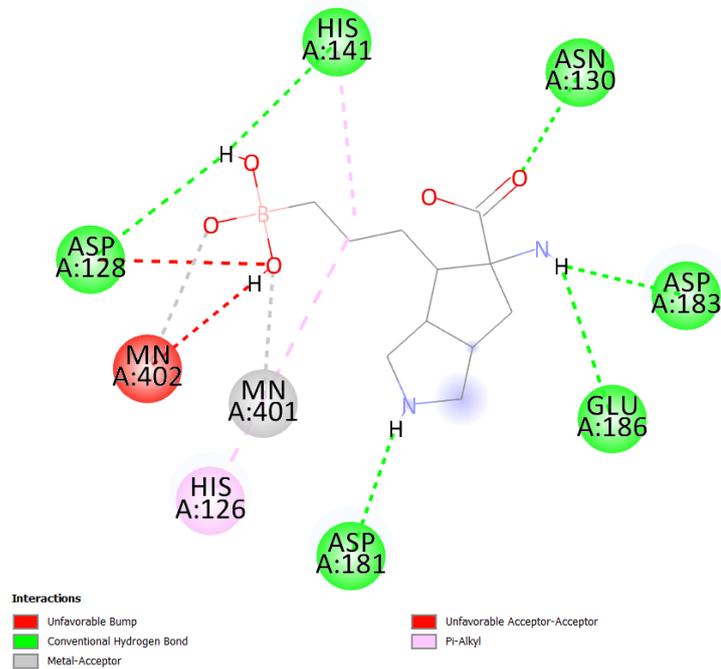
Referência: molécula de cor bege.

Docking: molécula de cor azul.

RMSD: 1,06.

Fonte: Autor, 2021.

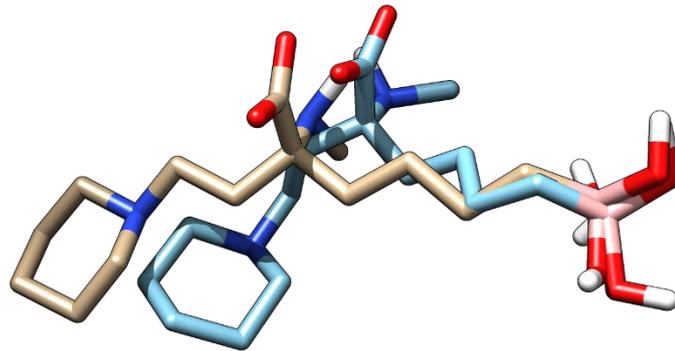
Figura 16. Interações ligante da enzima 6v7c arginase humana I.



Fonte: Autor, 2021.

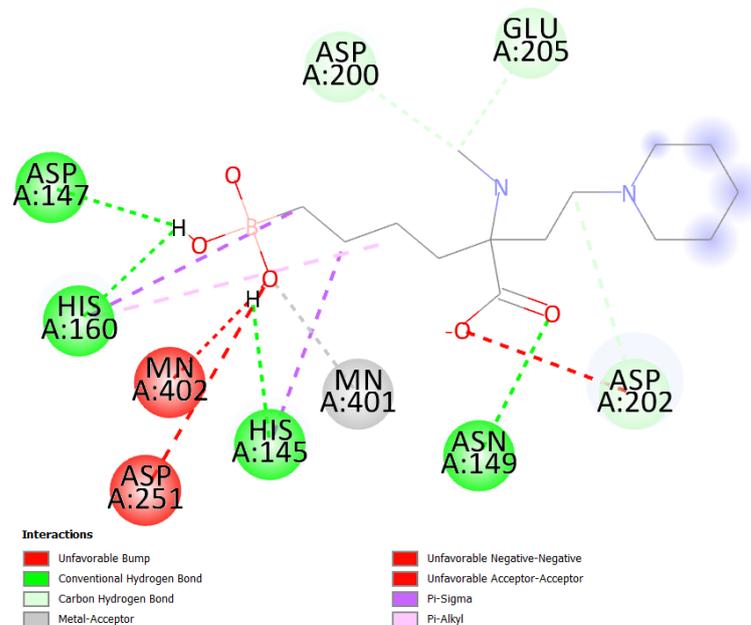
O resultado do *redock* da enzima arginase humana II (código PDB 4i06) foi satisfatório, mostrando boa sobreposição (RMSD de 1,70, Figura 17) com algumas alterações como por exemplo na disposição do carbono assimétrico e o anel de cinco membros quando comparado ao ligante de referência. Desta forma, o *docking* molecular para este receptor é preciso quando comparado a posição do ligante obtido na cristalografia. O ligante do receptor 4i06 (humana II) apresenta interações ligante-receptor com os seguintes resíduos de aminoácidos His145, Asp147, Asn149 e His160 interagindo por ligação de hidrogênio, Asp200, Asp202 e Glu205 com interações mais fracas e por último as interações com os íons de manganês (cofator), (Figura 18).

Figura 17. Sobreposição referente ao ligante da enzima Arginase II humana 4i06.



Referência: molécula de cor bege.
 Docking: molécula de cor azul.
 RMSD: 1,70.
 Fonte: Autor, 2021.

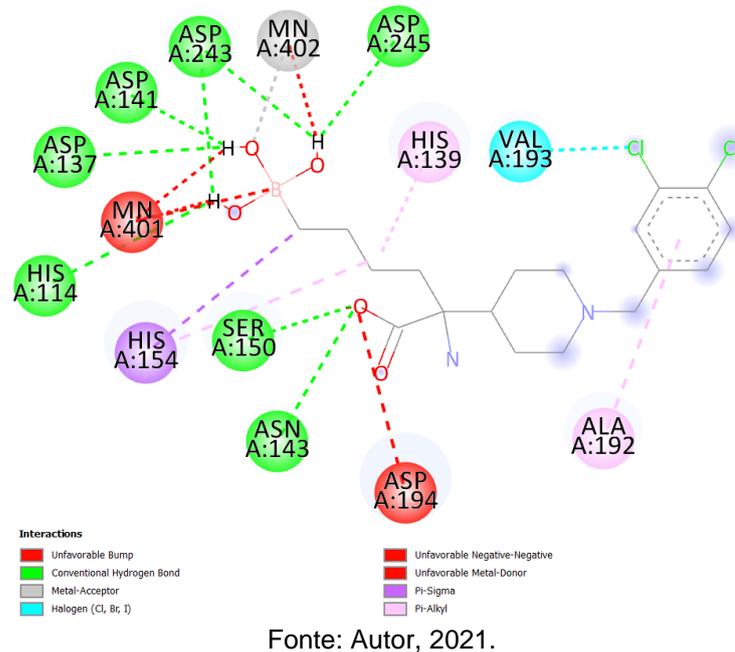
Figura 18. Interações ligante da enzima 6v7c arginase humana I.



Fonte: Autor, 2021.

O ligante da enzima (código PDB 5hja) referente à *L. mexicana* apresenta interações ligante-receptor (Figura 19) com os seguintes resíduos de aminoácidos His114, Asp137, Asp141, Asn143, Ser150, Asp243 e Asp245 interagindo por ligação de hidrogênio, His139, His154, Ala192 e Val193 com interações mais fracas e por último as interações com os íons de manganês (cofator).

Figura 19. Ligante de referência da enzima 5hja.



Para a construção da estrutura tridimensional da enzima arginase *L. amazonensis*, primeiramente fez-se o alinhamento das sequências de aminoácido utilizando a enzima *L. mexicana* como molde (código PDB 4ity) com estrutura tridimensional já definida. Este alinhamento das sequências é importante para quantificar a porcentagem de identidade entre as sequências. Neste caso, o resultado obtido foi de 99,37% de identidade calculado pela plataforma SIWSS-MODEL indicando que as estruturas tridimensionais geradas são semelhantes entre si. Como mostrado na Figura 20, os retângulos em azul destacam os aminoácidos do sítio ativo que complexam com os íons de manganês, sendo eles His114, Asp137, Asp141 e Asp243. Os retângulos em vermelho mostram quais aminoácidos são diferentes na enzima 4ity, os aminoácidos diferentes são Asp306 e Arg308. Analisando esses últimos dois resíduos na estrutura tridimensional da *L. amazonensis* gerada, nota-se que estão distantes do sítio ativo da enzima, logo esta mudança não deverá influenciar no sítio ativo.

Figura 20. Alinhamento de seqüências entre 4ity *L. mexicana* e *L. amazonensis*.

```

Target    MEHVQQYKFYKEKKMSIVLAPFSGGQPHSGVELGPDYLLKQGLQQDMEKLGWDTRLERVFDGKVVVEARKASDNGDRIGRV
4ity.1.A  -----KKMSIVLAPFSGGQPHSGVELGPDYLLKQGLQQDMEKLGWDTRLERVFDGKVVVEARKASDNGDRIGRV

Target    KRPRLTAECTEKIYKCVRRVAEQGRFPLTIGGDH$IALGTVAGVLSVHPDAGVIWDAHADINTMSGTVSGNLHGCLPSI
4ity.1.A  KRPRLTAECTEKIYKCVRRVAEQGRFPLTIGGDH$IALGTVAGVLSVHPDAGVIWDAHADINTMSGTVSGNLHGCLPSI

Target    LLGLDRENIPECFSWVPQVLKPNKIAIYIGLRAVDDEEKKILHDLNIAAFSMHHVDYRGIDKVVSMIAEAVSPKGTPEVMV
4ity.1.A  LLGLDRENIPECFSWVPQVLKPNKIAIYIGLRAVDDEEKKILHDLNIAAFSMHHVDYRGIDKVVSMIAEAVSPKGTPEVMV

Target    SYVDVTIDPLYVPATGTPVRGGLSFREALFLCERIAECGRLLVALDVVECNPLLAATESHVNDTISVECAIARCMGETLL
4ity.1.A  SYVDVTIDPLYVPATGTPVRGGLSFREALFLCERIAECGRLLVALDVVECNPLLAATESHVNDTISVECAIARCMGETLL

Target    YTPHTSSKL
4ity.1.A  YTPHTSSKL

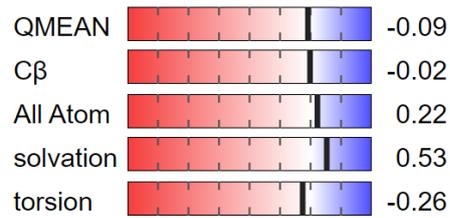
```

Fonte: Adaptado de Waterhouse et al., 2018.

Para avaliar a qualidade do modelo tridimensional gerado a plataforma SWISS-MODEL define alguns parâmetros com outras estruturas de enzimas do seu banco de dados. A propriedade GMQE (*Global Model Quality Estimation*) é um valor que estima a qualidade do modelo, neste caso a *L. amazonensis* combinando propriedades do alinhamento das seqüências e do modelo gerado. A pontuação resultante é expressa entre valores de 0 e 1, sendo que números mais altos indicam uma maior confiabilidade. O valor obtido para o modelo construído foi de 0,98. QMEAN (*Qualitative Model Energy Analysis*) é uma propriedade que leva em consideração propriedades geométricas e fornece como resultado a qualidade absoluta global (toda a enzima, Figura 21) e locais por resíduo de aminoácido (Figura 22). O valor de QMEAN indica se o modelo é comparável ao que se espera de estruturas experimentais de tamanho semelhante na sua conformação nativa (conformação que apresenta atividade biológica), resultados próximos de 0 são interpretados como bom acordo entre as estruturas experimentais, o valor obtido foi de -0,09.

Na Figura 21 são mostrados os termos individuais de pontuação de qualidade QMEAN globais. Estes termos individuais comparam o potencial de interação entre os átomos de C β , de todos os átomos, de solvatação e o de ângulo de torção. A área branca (valores próximos de 0) nos gráficos de barra indica que as propriedades são semelhantes às estruturas experimentais, área em azul indicam valores superiores a zero e área em vermelho indicam valores inferiores a zero.

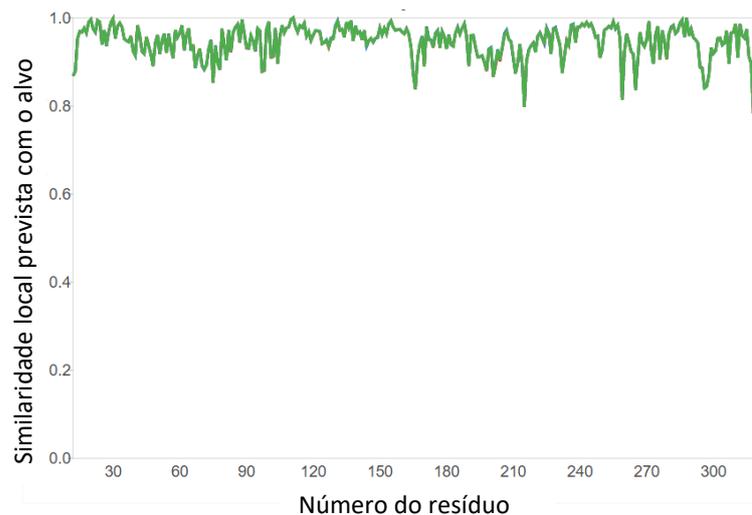
Figura 21. Propriedade QMEAN global e seus termos individuais.



Fonte: Adaptado de Waterhouse et al., 2018.

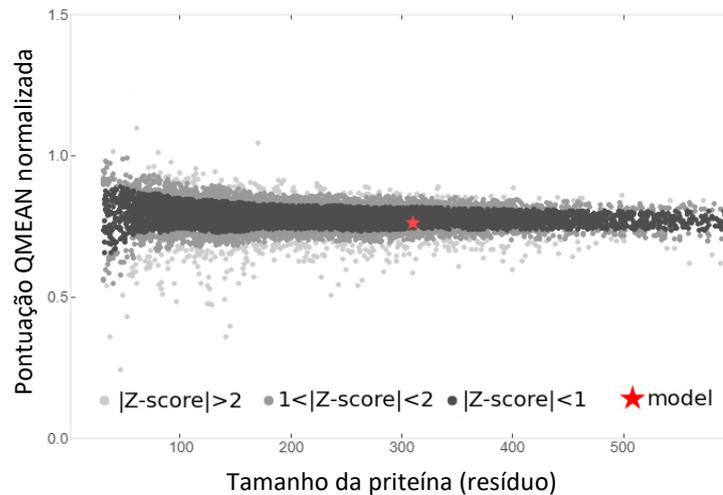
A qualidade local na Figura 22, mostra para cada resíduo do modelo (eixo X) a similaridade esperada em comparação com a conformação nativa (eixo Y), valores superiores a 0,6 são considerados pontuações de boa qualidade. Somente os últimos resíduos apresentaram valores inferiores a 0,6. Entretanto estes resíduos estão distantes do sítio ativo, logo não influenciam no *docking* molecular. A Figura 23 faz comparação de estruturas experimentais (obtidas do banco PDB) com suas respectivas pontuações de valores normalizados de QMEAN (eixo Y do gráfico), o eixo X do gráfico mostra o comprimento da proteína, e por último, o símbolo de uma estrela vermelha representa o modelo gerado. Os pontos em preto representam valores de QMEAN próximos do esperado para conformações nativas, e os pontos em cinza representam pontuações mais distantes do esperado.

Figura 22. Propriedade QMEAN local.



Fonte: Adaptado de Waterhouse et al., 2018.

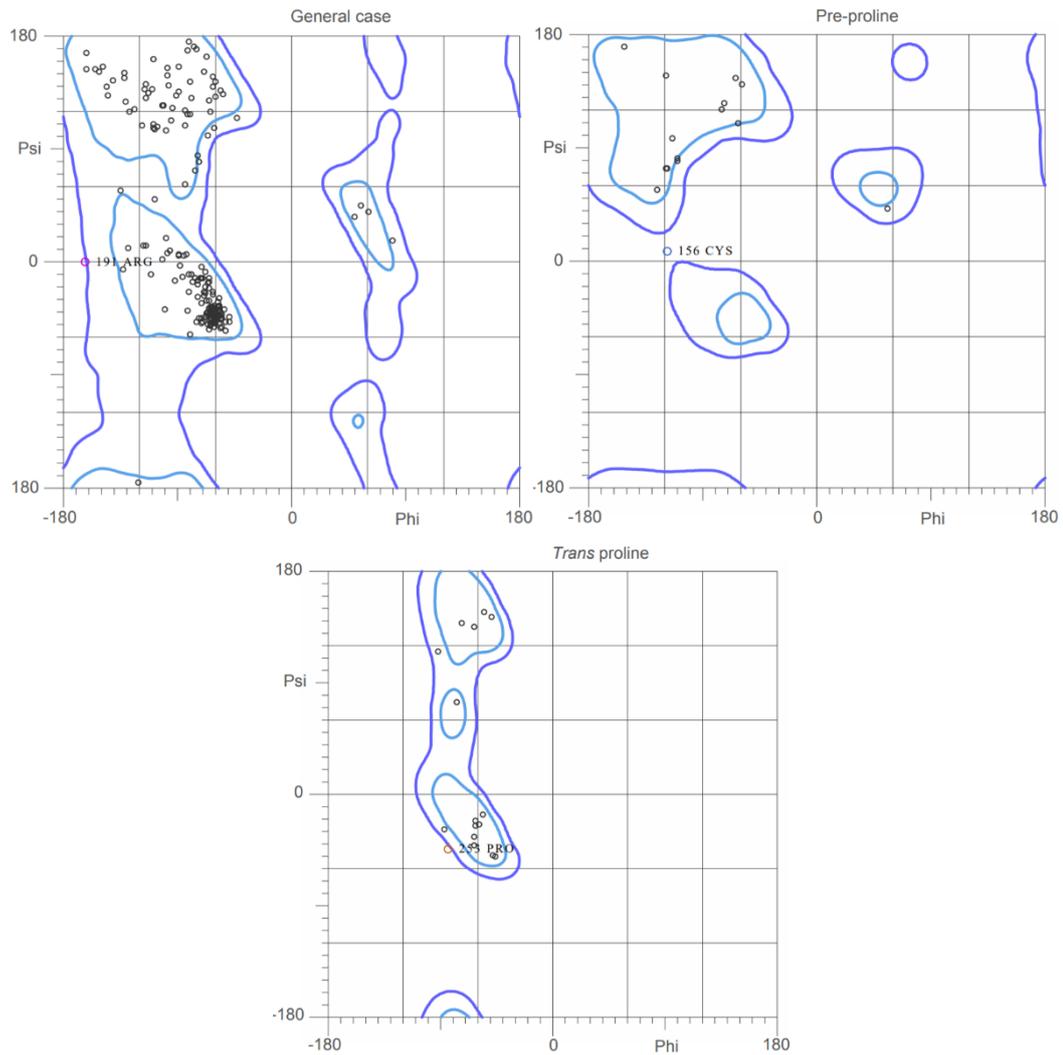
Figura 23. QMEAN de proteínas do PDB e do modelo *L. amazonensis*.



Fonte: Adaptado de Waterhouse et al., 2018.

Os gráficos de Ramachandran do modelo estão representados na Figura 24, nele são mostrados os valores dos ângulos ϕ (phi) e Ψ (psi) dos resíduos de aminoácidos. O primeiro gráfico representa as áreas permitidas para todos os tipos de resíduo, o segundo representa os resíduos que precedem resíduos de prolina (Pro) e por último representa os resíduos trans prolina. Os aminoácidos identificados pertencentes a regiões não permitidas são Arg191, Cys156 e Pro253 representando somente 1% de toda sequência, nenhum destes resíduos está presente no sitio ativo da arginase *L. amazonensis*, logo não diminui a confiança no modelo para posterior utilização no *docking* molecular.

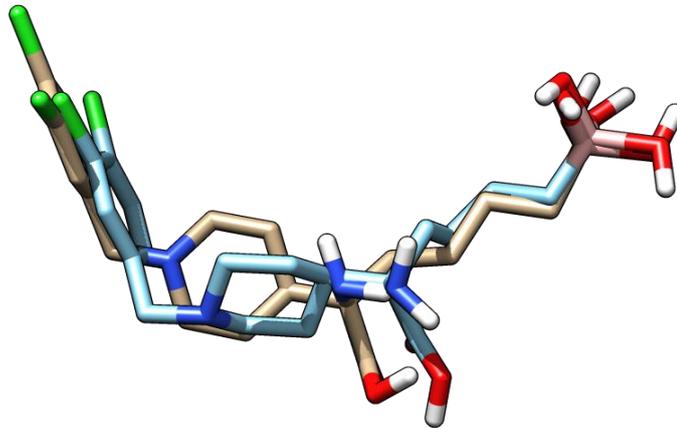
Figura 24. Gráficos de Ramachandran referente ao modelo.



Fonte: Autor, 2019.

O resultado do *cross-docking* usando o ligante da enzima 5hja (*L. mexicana*) na enzima construída, arginase *L. amazonensis* homóloga, foi satisfatório com boa sobreposição (RMSD de 1,65, Figura 25) com algumas alterações como por exemplo no carbono assimétrico e nos dois anéis presentes quando comparado a posição do mesmo ligante na enzima 5hja. O ligante apresenta interações ligante-receptor (Figura 26) com os seguintes resíduos de aminoácidos Asp137, Asp141, Asn143, Ser150, His154, Gly155, Glu197 e Thr257 interagindo por ligação de hidrogênio, His139, Ala192 e Asp194 com interações mais fracas e por último as interações com os íons de manganês (cofator).

Figura 25. Sobreposição referente ao ligante (5hja) na arginase *L. amazonensis*.



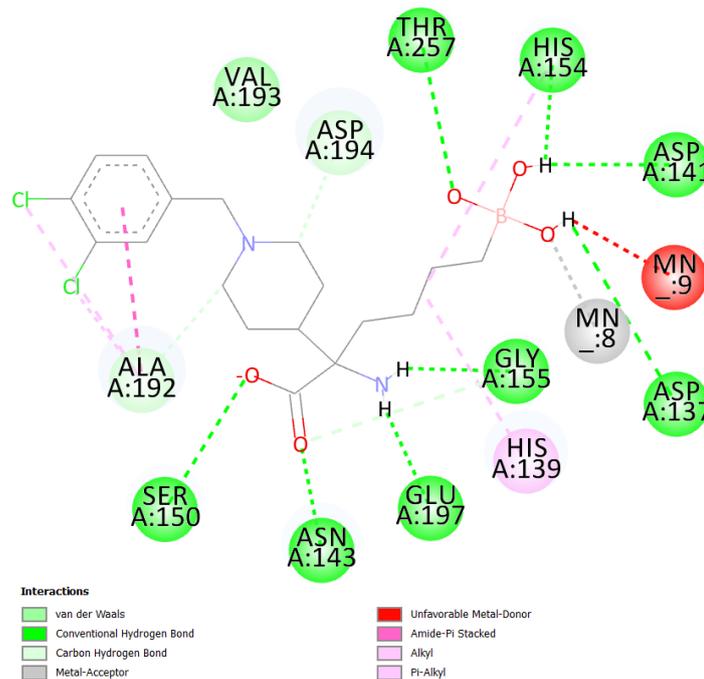
Referência: molécula de cor bege.

Docking: molécula de cor azul.

RMSD: 1,65.

Fonte: Autor, 2021.

Figura 26. Docking do ligante (5hja) na enzima homóloga *L. amazonensis*.

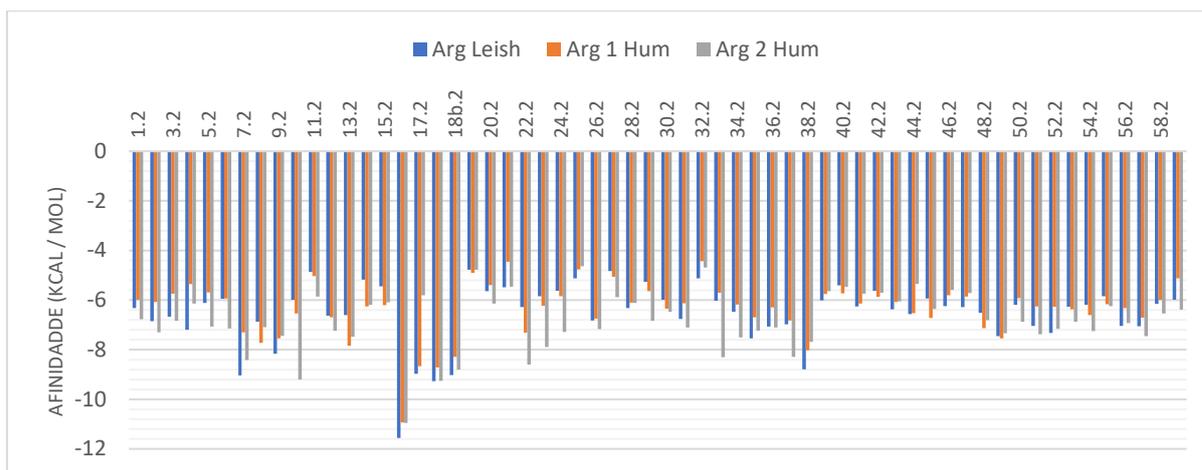


Fonte: Autor, 2021.

Após a validação da enzima homóloga *L. amazonensis*, parâmetros de qualidade do modelo e *cross-docking*, é possível afirmar que o modelo pode ser utilizado para o *docking* molecular das moléculas encontradas na literatura com inibição definida (estudos *in vitro*). Total de cinquenta e nove moléculas encontradas, os resultados de afinidade encontrados estão dispostos na Figura 27, tanto para arginase *L. amazonensis* e para as duas enzimas homólogas humanas arginase I e

II. Vale destacar que sessenta moléculas foram utilizadas, pois a molécula 18.2 não apresenta isomeria definida (E e Z), portanto foram desenhadas ambas isomerias (18.2a-E e 18.2b-Z).

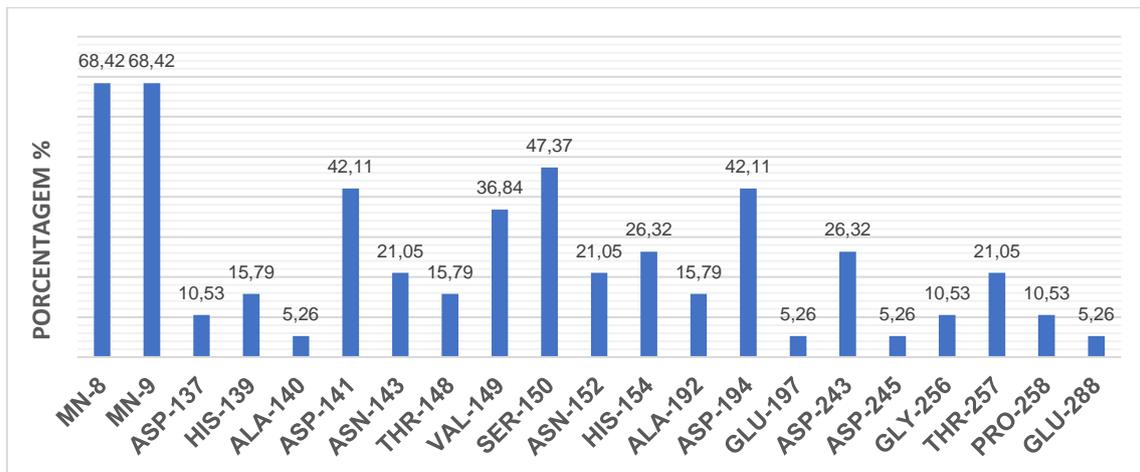
Figura 27. Valores do score dos *dockings* para as enzimas arginase de moléculas testadas *in vitro*.



Fonte: Autor, 2021.

Com o objetivo de encontrar interações que favoreçam a afinidade pela *L. amazonensis* foi feito uma identificação de quais aminoácidos interagem por ligação de hidrogênio e com os íons manganês nas moléculas que apresentaram mais afinidade pela *L. amazonensis* ao invés dos alvos humanos. As moléculas que apresentaram maior afinidade são 4.2, 7.2, 9.2, 16.2, 17.2, 18.2a, 18.2b, 21.2, 28.2, 35.2, 38.2, 39.2, 41.2, 43.2, 44.2, 46.2, 47.2, 52.2 e 56.2 (Figura 28). Dos resíduos que se destacam, 68,42% interagem com os dois íons manganês, 47,37% com Ser150 e 42,11% com Asp141. Todos presentes no sitio ativo no ligante de referência, assim apontando para a importância destes resíduos para aumentar a inibição enzimática da arginase *L. amazonensis*.

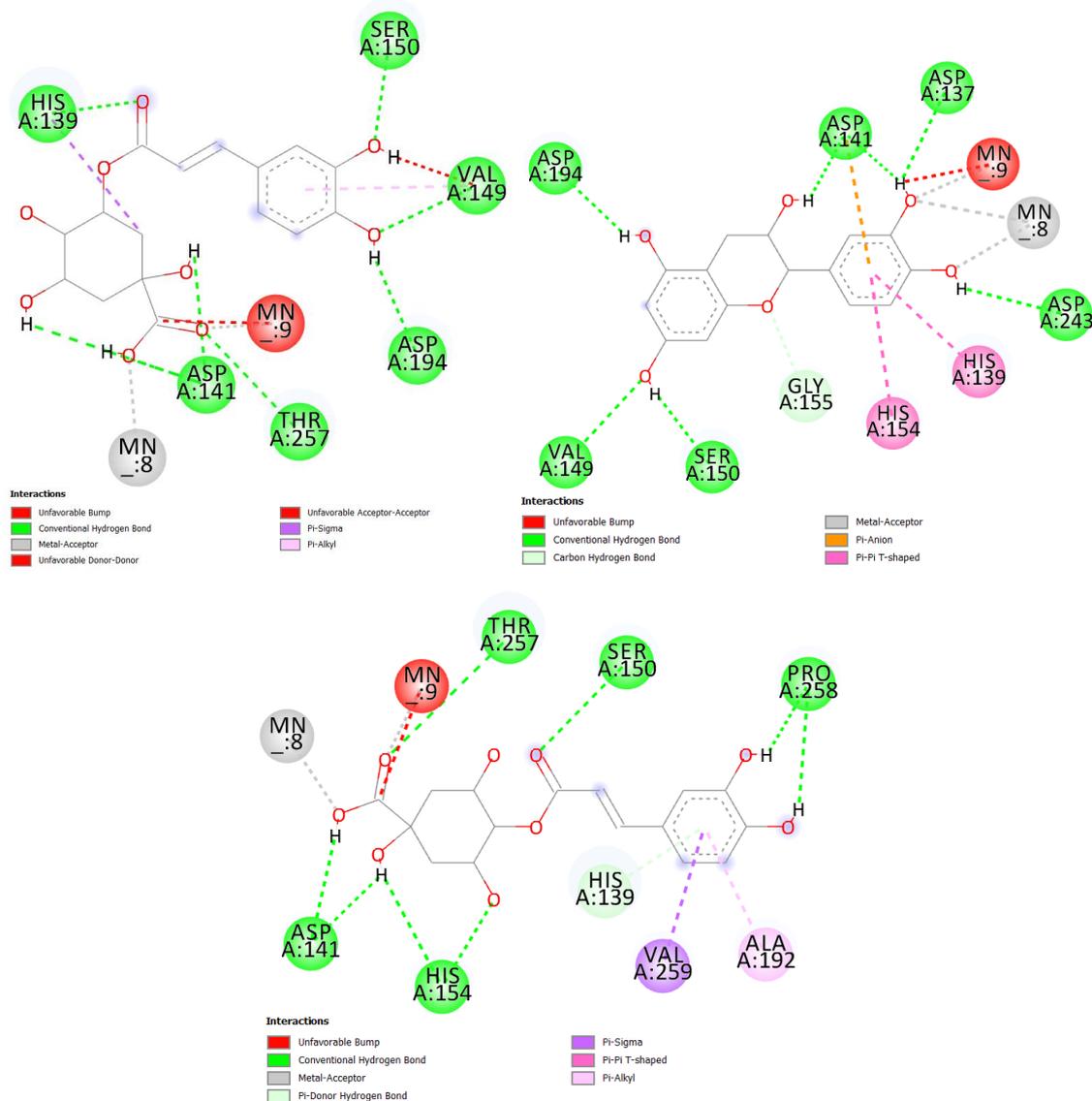
Figura 28. Frequência dos aminoácidos que interagem com as moléculas seletivas a *L. amazonensis*.



Fonte: Autor, 2021.

As moléculas 7.2, 9.2 e 18.2a (Figura 29) interagem com íons de manganês, Asp141 e Ser150, interações que mais aparecem nos casos de maior afinidade a arginase *L. amazonensis*. Duas destas moléculas (7.2 e 18.2a) interagem com os íons pela função ácido carboxílico e a outra (9.2) pela função fenol. Na 18a há uma preferência de interação com os íons manganês pela função orgânica ácido carboxílico ao invés da função fenol também presente na molécula. Ambas moléculas que estão em contato com os íons pelos átomos de oxigênio da função ácido carboxílico exibem valores superiores de afinidade, 7.2 com afinidade de $-9,04$ kcal/mol e para 18.2a com valor de $-9,27$ kcal/mol e já a 9.2 apresenta afinidade igual a $-8,16$ kcal/mol.

Figura 29. Interações molécula 7.2, 9.2 e 18.2a em *L. amazonensis* respectivamente.

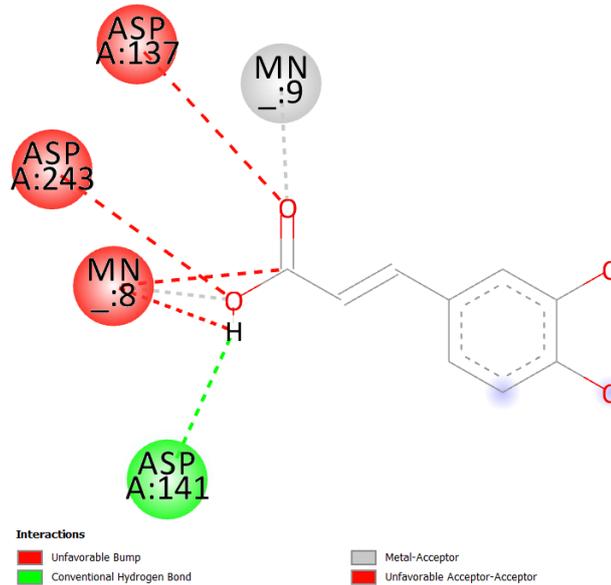


Fonte: Autor, 2021.

Das sessenta moléculas testadas, trinta e duas interagem com os íons manganês pelas seguintes funções orgânicas: uma molécula pelo oxigênio de função amida, seis por oxigênios de ácidos carboxílico, vinte e duas por oxigênio de fenol, uma por oxigênio de éster, uma por nitrogênio de nitrila e por último uma por interação pelo átomo de flúor. A molécula 16.2 apresenta o melhor resultado de afinidade pela *L. amazonensis* com valor de $-11,56$ kcal/mol, suas interações (Figura 30) com o sítio ativo da enzima são apenas com os cofatores e uma ligação de hidrogênio com o resíduo Asp141. Essa informação reforça ainda mais a

importância dos íons manganês para uma maior afinidade de um ligante com o receptor.

Figura 30. Interações da molécula 16.2 em *L. amazonensis*.



Fonte: Autor, 2021.

4.5 DOCKING MOLECULAR DO BANCO DE MOLÉCULAS NUBBE

A base de dados NUBBE (VALLI et al., 2013; PILON et al., 2017) foi escolhida para a triagem virtual com o objetivo de identificar novos *hits* para tratamento da leishmaniose. Após a aplicação dos filtros, de acordo com os valores de afinidade pela enzima *L. amazonensis* (inferiores a -10 kcal/mol), foram identificadas cinquenta e três moléculas, dezesseis destas já com atividade leishmanicida descrita na literatura. Todas essas moléculas estão identificadas na Tabela C (ANEXO C). As moléculas sem identificação de configuração foram testadas todas as possibilidades, desta forma acrescido uma letra ao seu número de identificação. Os valores de afinidade e constantes de inibição, calculados pelo próprio Autodock, tanto para *L. amazonensis* quanto para arginase I e II humanas estão identificados na Tabela C.

Das cinquenta e oito moléculas do NuBBE identificadas no *docking*, cinquenta e sete interagem com os íons manganês pela função orgânica ácido carboxílico, somente uma interage pelo grupo nitro (molécula 1727). Sendo assim, o ácido carboxílico é uma característica predominante para encontrar moléculas com alta afinidade para a *L. amazonensis*. As classificações presentes nas moléculas que

apresentam atividade leishmanicida descrita na literatura são seis derivados aromáticos, seis fenilpropanóides, um terpeno e três policetídeos.

As moléculas sem atividade leishmanicida na literatura apresentam as seguintes classificações, quinze derivados aromáticos, sete fenilpropanóides, nove terpenos, um alcaloide, três policetídeos e dois sem classificação. Todos estes compostos estão destacados na Tabela 3 mostrando quais são as fontes de obtenção e suas respectivas espécies, informações tiradas da base de dados NuBBE.

Tabela 3. Moléculas do NuBBE com afinidade a arginase *L. amazonensis* sem atividade na literatura.

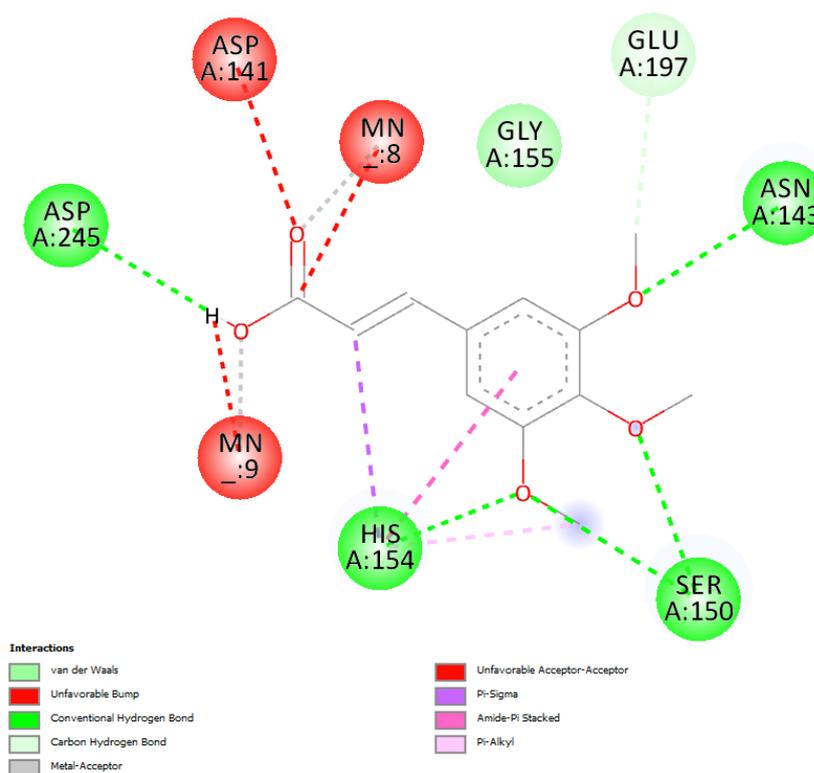
ID	ESPÉCIE	FONTE
2	<i>Piperaceae Piper crassinervium</i>	Planta
5	<i>Piperaceae Piper crassinervium</i>	Planta
144	<i>Scrophulariaceae Stemodia foliosa</i>	Planta
148	<i>Piperaceae Piper gaudichaudianum</i>	Planta
149	<i>Piperaceae Piper aduncum</i>	Planta
185	<i>Myristicaceae Iryanthera juruensis</i>	Planta
186	<i>Myristicaceae Iryanthera juruensis</i>	Planta
277	<i>Valsaceae Phomopsis cassiae</i>	Microorganismo
289	<i>Piperaceae Piper crassinervium</i>	Planta
290	<i>Piperaceae Piper crassinervium</i>	Planta
342	<i>Piperaceae Piper crassinervium</i>	Planta
433	<i>Rubiaceae Rudgea jasminoides</i>	Planta
457	<i>Fabaceae Cassia leptophylla</i>	Planta
631	<i>Euphorbiaceae Alchornea glandulosa</i>	Semi-síntese
642	<i>Myristicaceae Iryanthera juruensis</i>	Planta
949	<i>Meliaceae Trichilia clausenii</i>	Planta
950	<i>Meliaceae Trichilia clausenii</i>	Planta
975	<i>Swinglea glutinosa</i>	Planta
1016	<i>Hortia brasiliiana</i>	Planta
1017	<i>Hortia brasiliiana e Hortia oreadica</i>	Planta
1018	<i>Hortia brasiliiana</i>	Planta
1022	<i>Hortia oreadica, Hortia brasiliiana e Rutaceae Hortia oreadica</i>	Planta
1024	<i>Hortia oreadica</i>	Planta
1043	<i>Schinus terebinthifolius</i>	Semi-síntese
1202	<i>Verbenaceae Vitex polygama</i>	Planta
1257	<i>Cabralea canjerana</i>	Planta
1266	<i>Rutaceae Citrus sinensis</i>	Planta
1655	<i>Lauraceae Nectandra puberula</i>	Planta
1727	<i>Meliaceae Cabralea polytricha</i>	Planta
1906	<i>Tipuana tipu, Orbignya martiana, Caryocar coriaceum e Elaeis guineensis</i>	Planta
1952	<i>Rutaceae Zanthoxylum acutifolium</i>	Planta
2142	<i>Orbignya martiana</i>	Planta
2144	<i>Elaeis guineensis e Orbignya martiana</i>	Planta
2211	<i>Compositae Calea cuneifolia;</i>	Planta
2391	<i>Hymenea coubaril</i>	Planta
2392	<i>Hymenea coubaril</i>	Planta
2393	<i>Hymenea coubaril</i>	Planta

Fonte: Adaptado de Valli et al., 2013 e Pilon et al., 2017.

4.6 DESENHO DE INIBIDORES

A molécula de ácido cafeico (16.2 e ID NuBBE 134) teve destaque em seu valor ($-11,56$ kcal/mol) de afinidade pelo alvo arginase (*L. amazonensis*) e, de forma similar, a molécula do NuBBE 31 (ácido 3,4,5-trimetoxicinâmico) apresentou as mesmas interações (Figura 31) com os íons de manganês (cofatores da enzima) e com o resíduo de aminoácido Asp141, além dessas interações, este composto interage por ligação de hidrogênio com o resíduo de Ser150, interação que aparece em 47,37% das moléculas de referência e o valor de afinidade obtido foi de $-12,23$ kcal/mol. O ácido 3,4,5-trimetoxicinâmico tem atividade conhecida contra o parasita *L. amazonensis* e *L. brasiliensis* (NÓBREGA et al., 2019; CURY et al., 2015; RODRIGUES et al., 2019).

Figura 31. Interação da molécula 31 em *L. amazonensis*.

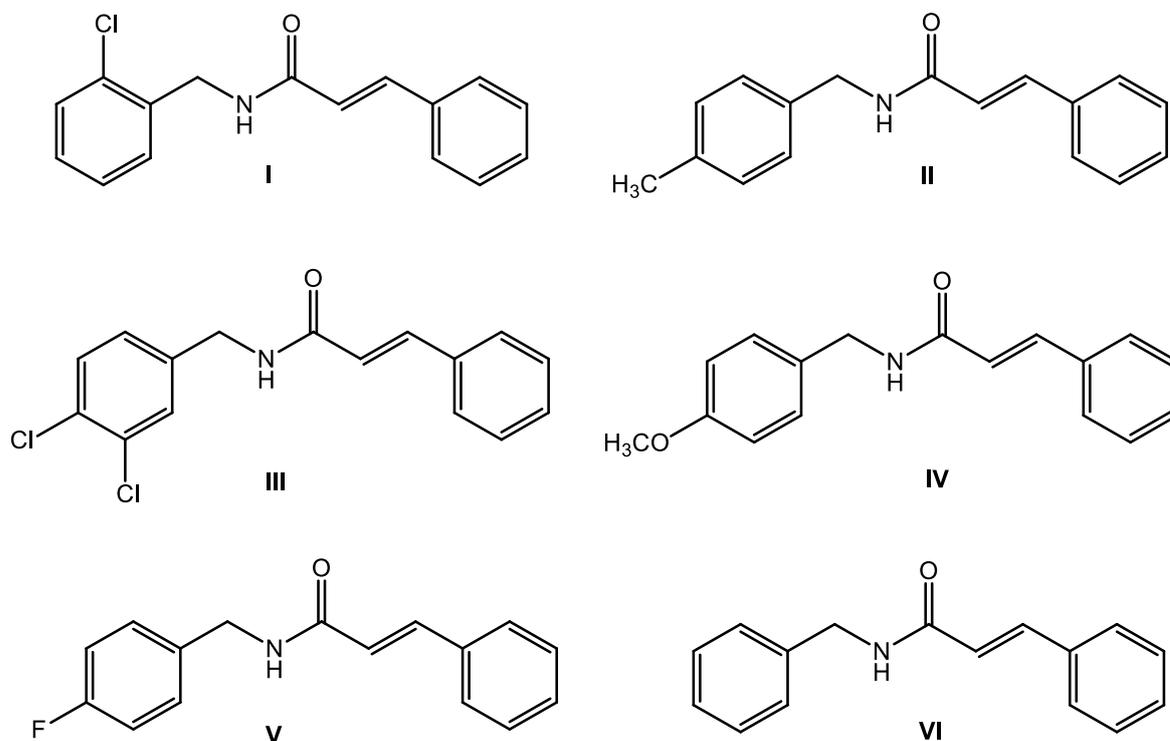


Fonte: Autor, 2022.

Dessa forma, foram planejados seis possíveis inibidores derivados do ácido cinâmico para arginase (*L. amazonensis*), considerando a viabilidade sintética, disponibilidade de reagente e inexistência de dados na literatura relativos ao potencial anti-Leishmania (I–VI, Figura 32). Estes compostos foram desenhados

mantendo características estruturais ao ácido cafeico (16.2) e ao análogo ao ácido cinâmico (molécula 31 NuBBE), afim de compreender as interações de amidas com as enzimas arginase *L. amazonensis*, humana 1 e humana 2.

Figura 32. Análogos ao ácido cafeico e ácido cinâmico.



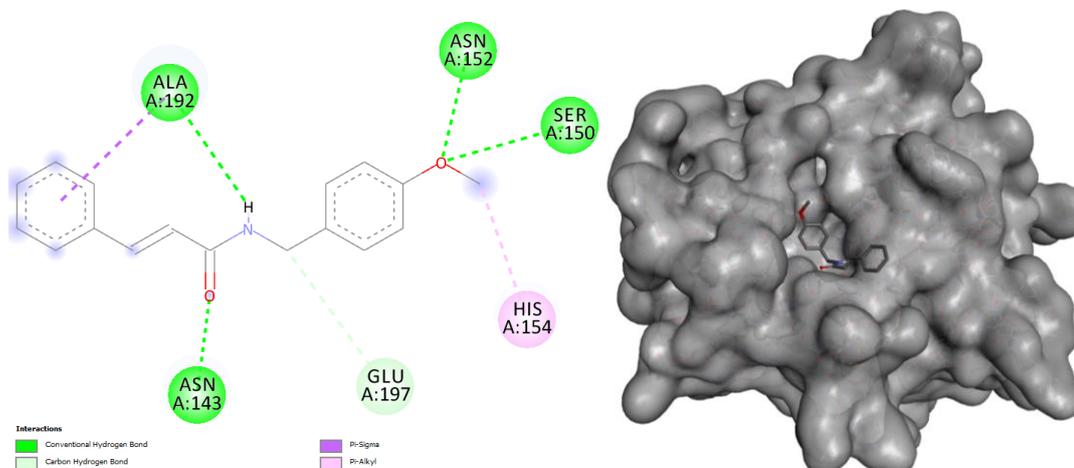
Fonte: Autor, 2022.

Os resultados de *docking* molecular estão dispostos na Tabela 4, o melhor valor de afinidade obtido contra *L. amazonensis* foi referente a molécula **IV** com valor de afinidade igual a -5,57 kcal/mol. As interações obtidas para este análogo foram ligações de hidrogênio com os resíduos Asn143, Ser150, Asn152 e Ala192 representadas na Figura 33. Os valores positivos obtidos para os alvos humanos indicam a repulsão das moléculas no sítio ativo da enzima, podendo assim não ter interação com o alvo humano, algo extremamente promissor.

Tabela 4. Valores do score dos *dockings* dos análogos em kcal/mol.

Moléculas análogas	Leishmania	Humana 1	Humana 2
IV	-5,57	1,14	1,19
II	-5,54	0,84	0,89
I	-5,44	0,85	0,89
VI	-5,32	1,14	0,89
III	-5,24	0,84	0,89
V	-5,23	0,84	0,89

Fonte: Autor, 2022.

Figura 33. Interações do análogo IV com o alvo *L. amazonensis* (2D e 3D).

Fonte: Autor, 2022.

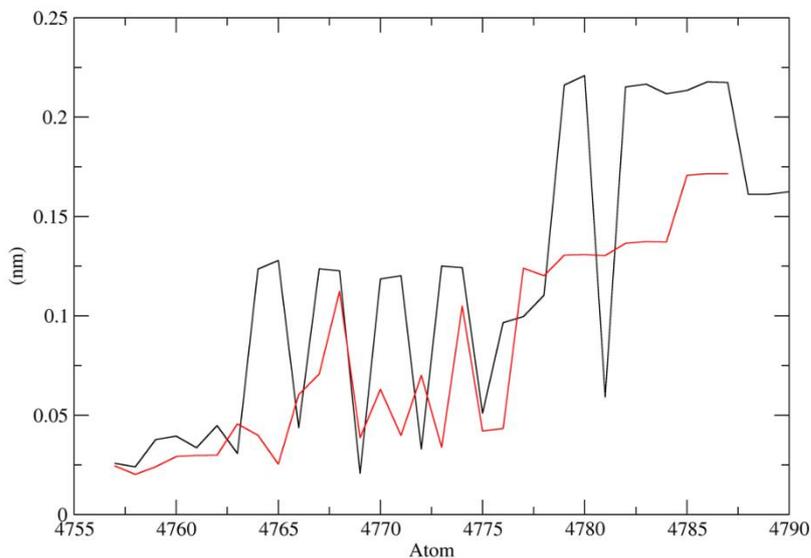
4.6.3 Simulação dinâmica molecular

A dinâmica molecular se refere a uma das técnicas utilizadas para o estudo de macromoléculas biológicas, principal característica está relacionada a sua versatilidade, as simulações têm contribuído em diversas etapas no planejamento racional de fármacos a um determinado alvo terapêutico (alvo biológico de interesse). Esta técnica é baseada nos princípios da Mecânica Clássica fornecendo informações sobre o comportamento dinâmico a nível molecular de determinados sistemas ao longo do tempo através da integração de equações de movimento (NAMBA; SILVA; SILVA, 2008).

O primeiro resultado a ser analisado é a flutuação atômica dos ligantes (RMSF, *Root Mean Square Fluctuation*) composto IV e 31 do NuBBE obtendo o quanto cada átomo de uma estrutura se desvia dele mesmo, como é mostrado no gráfico abaixo (Figura 34). O composto 31 será tratado como molécula de referência

de inibição contra o parasita *Leishmania amazonensis* apresentando valor de CI_{50} igual a $0,608 \mu\text{mol/L}$.

Figura 34. Flutuação atômica (RMSF).



Produto IV: linha preta.

Ligante 31 NuBEE: linha vermelha.

Fonte: Autor, 2022.

Pelo que pode ser visto o ligante produto **IV** apresenta uma flutuação atômica mais intensa que o ligante 31, o que pode ser resultado de uma menor interação com os resíduos do sítio de ligação, sugerindo que esse ligante deve ter uma variação conformacional mais intensa e, possivelmente, um menor número de ligações de hidrogênio ao longo da simulação. Com relação à variação estrutural, o RMSD (*Root Mean Square deviation*) é apresentado abaixo (Figura 35), sendo interpretado o desvio da estrutura inicial (antes da dinâmica) com relação a estrutura final obtida ao longo da dinâmica molecular. O resultado apresentado confirma o que foi observado no caso do RMSF (Figura 34), pois, apesar de os dois ligantes mostrarem um comportamento sem aumento ou diminuição do RMSD, a flutuação apresentada pelo produto **IV** (em preto) é mais intensa, sugerindo que sua estrutura estava mais "livre" no sítio de ligação, como é reforçado pelo comportamento médio do RMSD dos complexos, mostrado na Figura 36 abaixo.

Figura 35. RMSD dos ligantes.

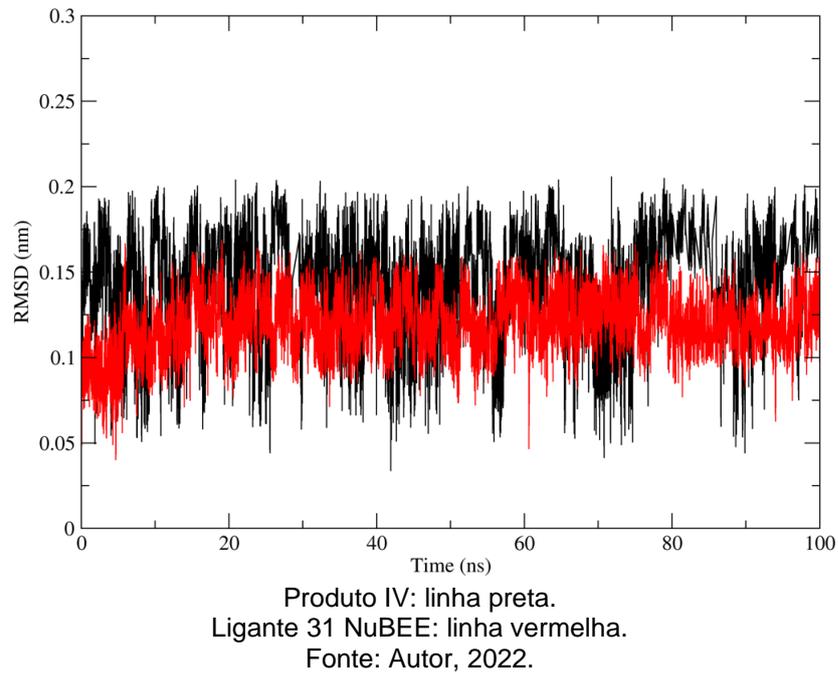
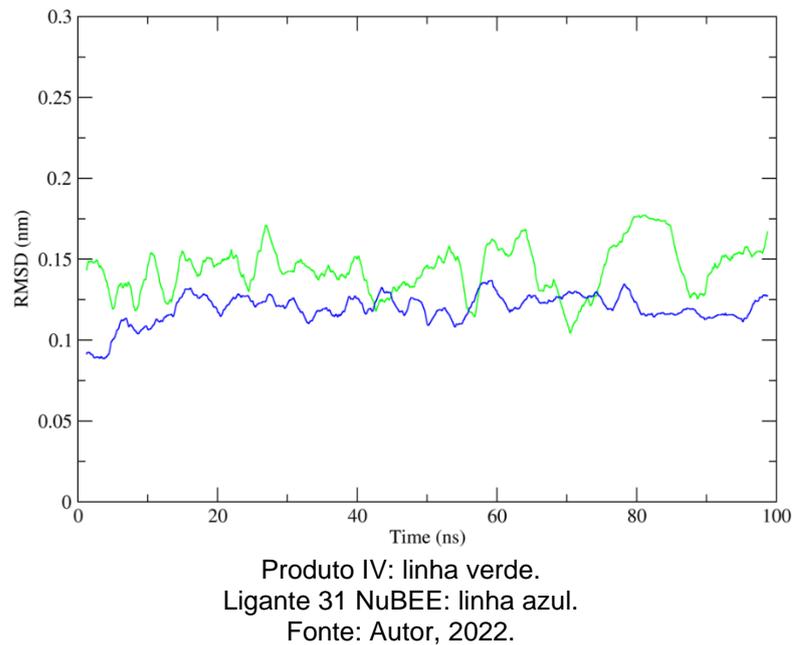


Figura 36. RMSD.



Finalmente, a interação dos ligantes com os resíduos do sítio de ligação foi avaliada através da ocupância da ligação de hidrogênio, ou seja, a porcentagem de interação (Tabela 5) está relacionada a taxa de permanência das ligações de hidrogênios com determinados resíduos de aminoácidos. Os resultados mostrados pela simulação confirmam o sugerido pelas análises da flutuação e movimentação estrutural, ou seja, que o ligante 31 é mais estável no sítio de interação, realizando

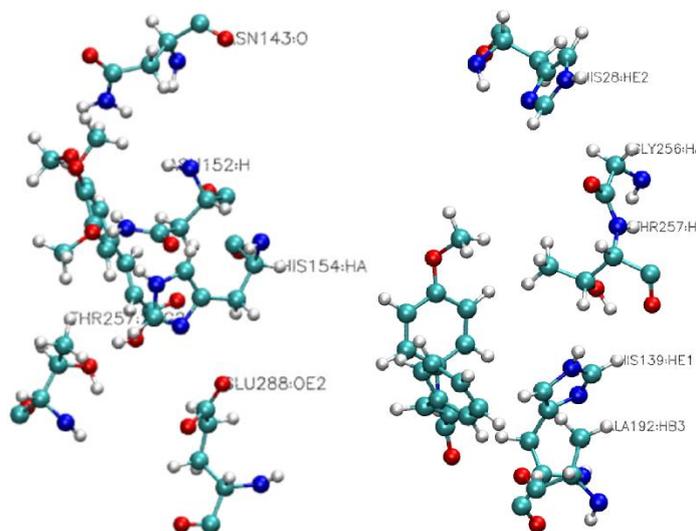
mais interações e por tempos mais longos. Muitas outras interações de menor duração não foram contabilizadas, mas estão mostradas apenas aquelas que permaneceram por mais de 1% do tempo da simulação. A Figura 37 abaixo mostram os principais resíduos interagentes com o ligante 31 e com o produto IV, respectivamente.

Tabela 5. Ligações de hidrogênio dos ligantes.

Ligante 31	Interação	% de interação	Ligante IV	Interação	% de interação
	ASP141	10,57		THR257	5,41
	ASN152	7,43		ALA192	2,36
	ASN143	3,68		HIS28	1,82
	GLU288	3,14		HIS139	1,50
	GLY155	2,52		GLY256	1,24
	THR257	1,69			
	HIS154	1,11			

Fonte: Autor, 2022.

Figura 37. Interação dos resíduos para o ligante 31 e para o produto IV respectivamente.



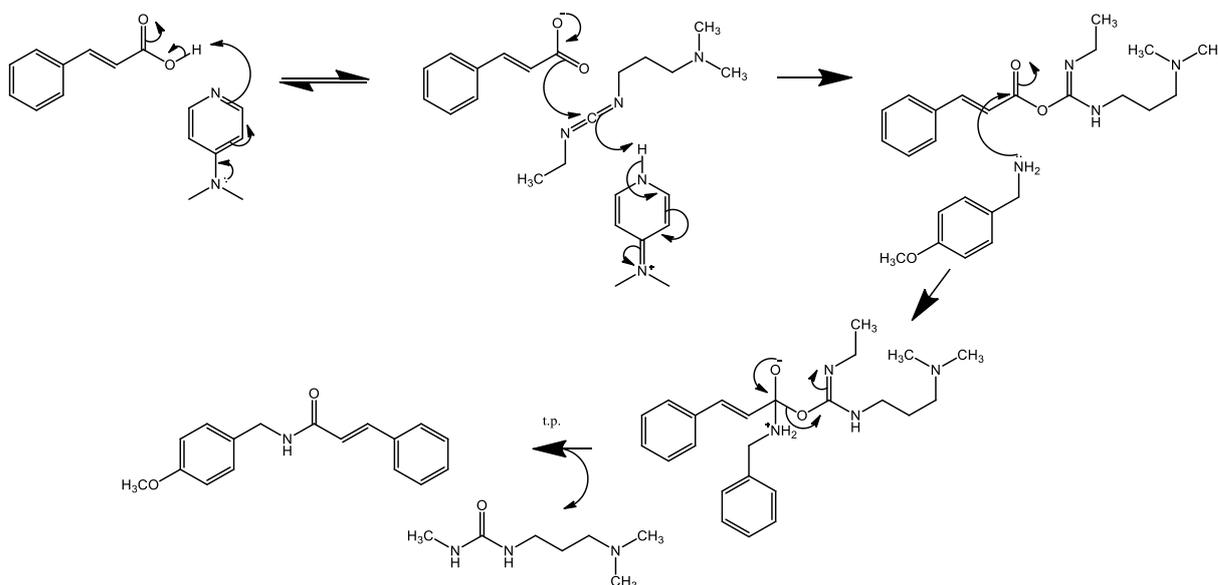
Fonte: Autor, 2022.

4.7 SÍNTESE DO ANÁLOGO IV

Para a obtenção do produto **IV** foi realizada a reação entre a *p*-anisidina e o ácido *trans* cinâmico. Como ácidos carboxílicos não possuem bom grupo abandonador, para que a reação seja viável, foi utilizado o agente de acomplamento 4-dimetilaminopiridina (DMAP). O DMAP atua como base capturando o hidrogênio do ácido carboxílico e, em seguida o oxigênio do carboxilato atua como

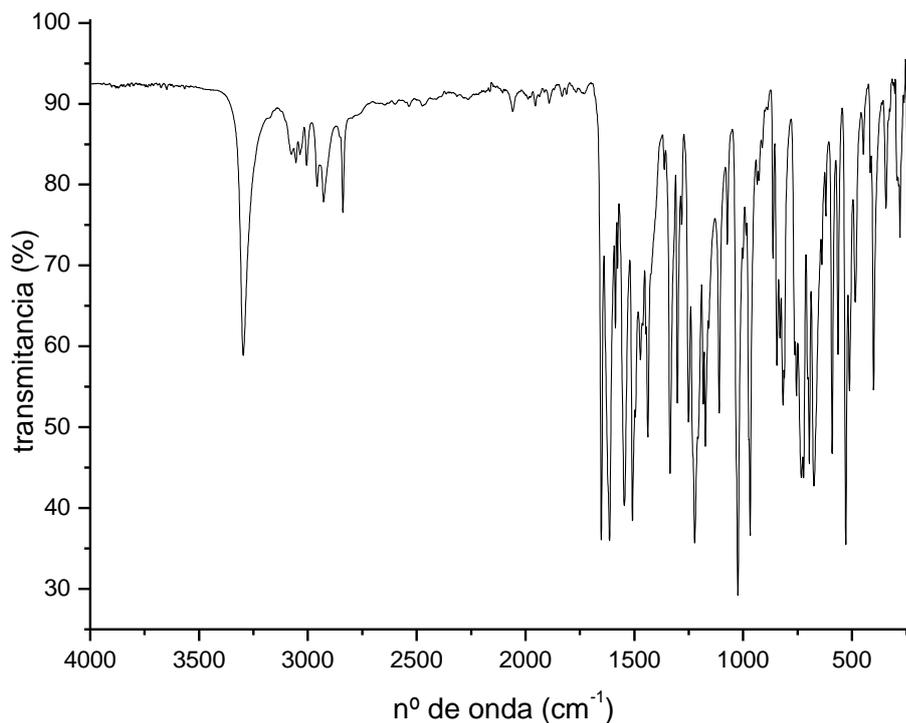
nucleófilo atacando o carbono da diimida (EDC). Posteriormente a amina realiza um ataque nucleofílico no carbono carbonílico para, finalmente, liberar um subproduto análogo da ureia e o produto **IV** (Figura 38).

Figura 38. Proposta de mecanismo para obtenção de **IV**.



Fonte: Autor, 2022.

Após a purificação do produto **IV**, que foi obtido como um sólido amarelo claro e temperatura de fusão de 112,8 °C, o mesmo foi submetido a análise de Espectroscopia no Infravermelho (Figura 39). A molécula apresenta banda característica relativa à ligação N–H em 3297 cm^{-1} e em 1652 cm^{-1} é possível observar uma banda característica de carbonila de amida. Além disto, as bandas em 1251 cm^{-1} e 1024 cm^{-1} foram atribuídas à deformação axial assimétrica de C–O–C.

Figura 39. Espectro na região do infravermelho do composto **IV**.

A análise do espectro de RMN de ^1H (Figuras 40 e 41) apresentou o sinal característico de metoxila em 3,78 ppm (3H), um duplete em δ 4,48 e 4,49 (2H) referente ao metileno, dois dupletos em δ 6,41 (1H, *d*, $J = 15,6$ Hz) e 7,75 (1H, *d*, $J = 15,6$ Hz) característicos de hidrogênios metínicos em *trans* e um simpleto largo em 6,09 ppm referente ao hidrogênio ligado ao nitrogênio da amida. Além disto foram observados quatro sinais característicos de hidrogênios aromáticos em δ 6,85 (2H, *d*, $J = 8,7$ Hz), δ 7,24 (2H, *m*), δ 7,33 (3H, *m*) e δ 7,47 (2H, *m*).

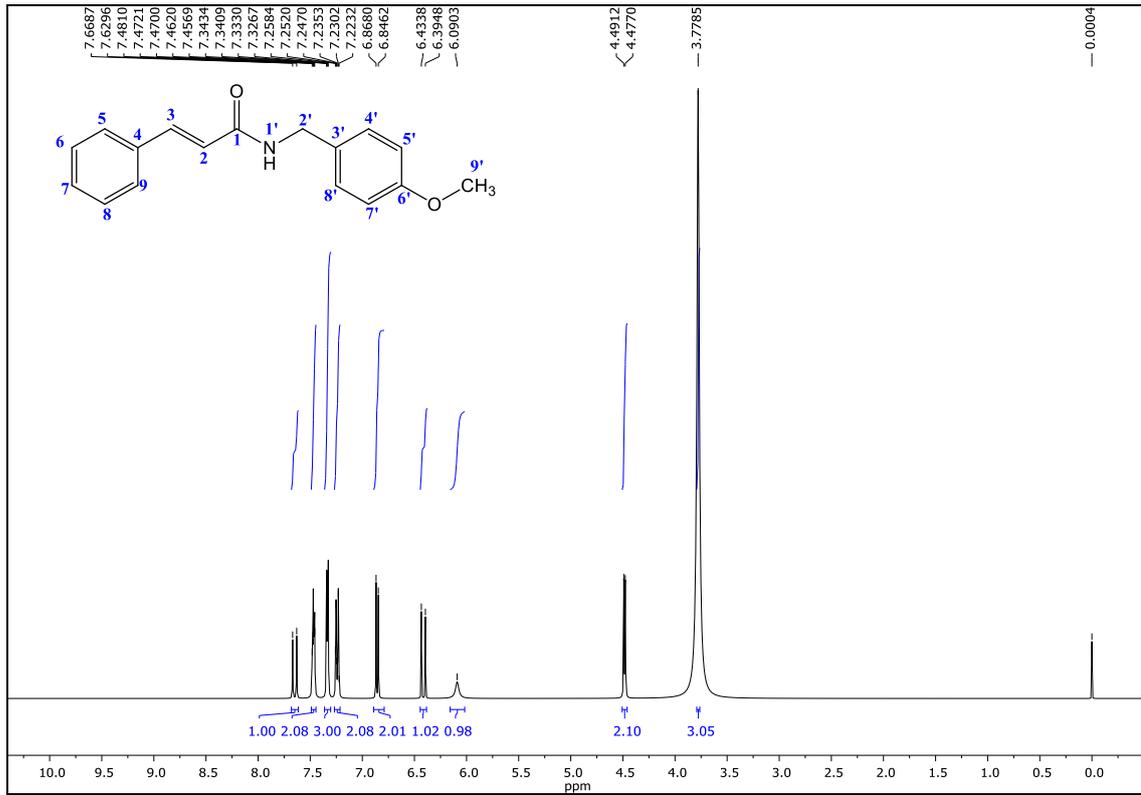
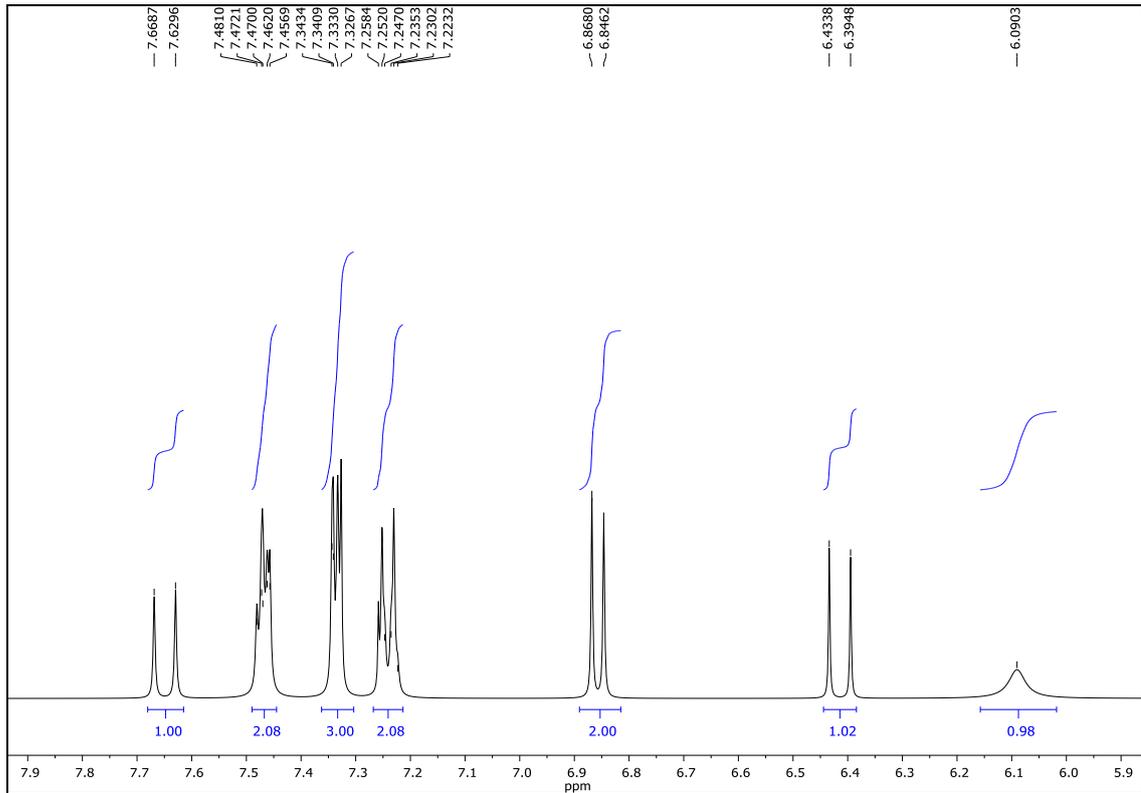
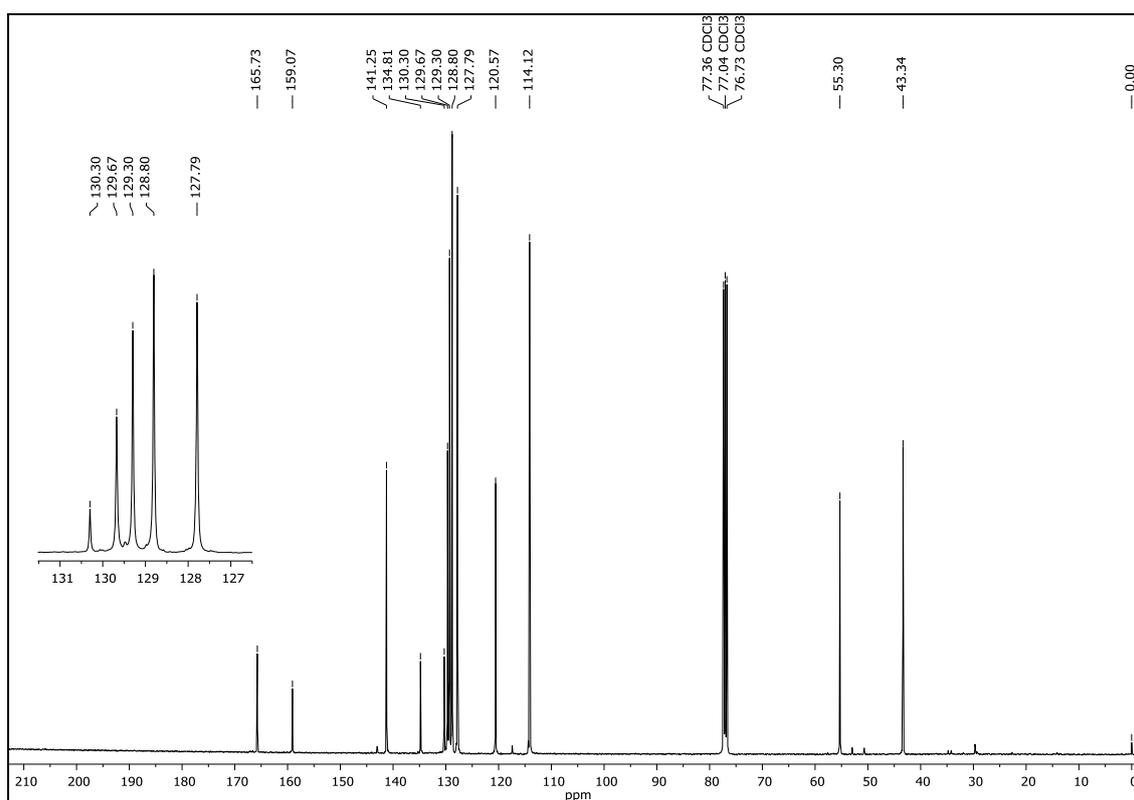
Figura 40. Espectro de RMN de ^1H de **IV** (400 MHz, CDCl_3).

Figura 41. Ampliação do espectro de RMN de ^1H de **IV** (δ 5,9–7,9).

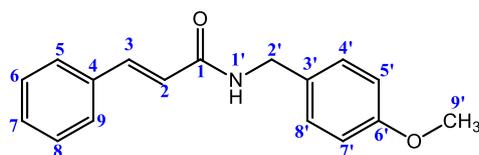


No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 42) foram observados dezessete sinais, sendo um deles característico da metoxila em δ 55,3, um sinal em 43,3 ppm referente ao carbono metilênico e em δ 165,7 o sinal característico de carbonila de amida.

Figura 42. Espectro de RMN de ^{13}C de IV (100 MHz, CDCl_3).



As atribuições de hidrogênio e carbono estão descritas na Tabela 6 e foram baseadas nos mapas de contorno HSQC (Figuras 43, 44 e 45) e HMBC (Figuras 46, 47 e 48). A correlação observada entre o hidrogênio metilênico (δ 4,48) e o carbono da carbonila (δ 165,7) (Figura 49) comprova o acoplamento realizado entre a amina e o derivado de ácido cinâmico.

Tabela 6. Dados de RMN de **IV** (CDCl₃).

Posição	δ_{H}^a (m^b , J^c)	δ_{C}^a	Posição	δ_{H}^a (m^b , J^c)	δ_{C}^a
1	–	165,7	1'	6,09 (s)	–
2	6,41 (d, 15,6)	120,6	2'	4,48 (d)	43,3
3	7,65 (d, 15,6)	141,3	3'	–	130,3
4	–	134,8	4'	7,24 (m)	128,8
5	7,47 (m)	127,8	5'	6,85 (d, 8,7)	114,2
6	7,33 (m)	129,3	6'	–	159,1
7	7,33 (m)	129,6	7'	6,85 (d, 8,7)	114,2
8	7,33 (m)	129,3	8'	7,24 (m)	128,8
9	7,47 (m)	127,8	9'	3,78 (s)	55,3

^a deslocamento químico em ppm, em relação ao TMS como padrão interno

^b multiplicidade

^c constante de acoplamento em Hz

Figura 43. Mapa de contorno HSQC de IV.

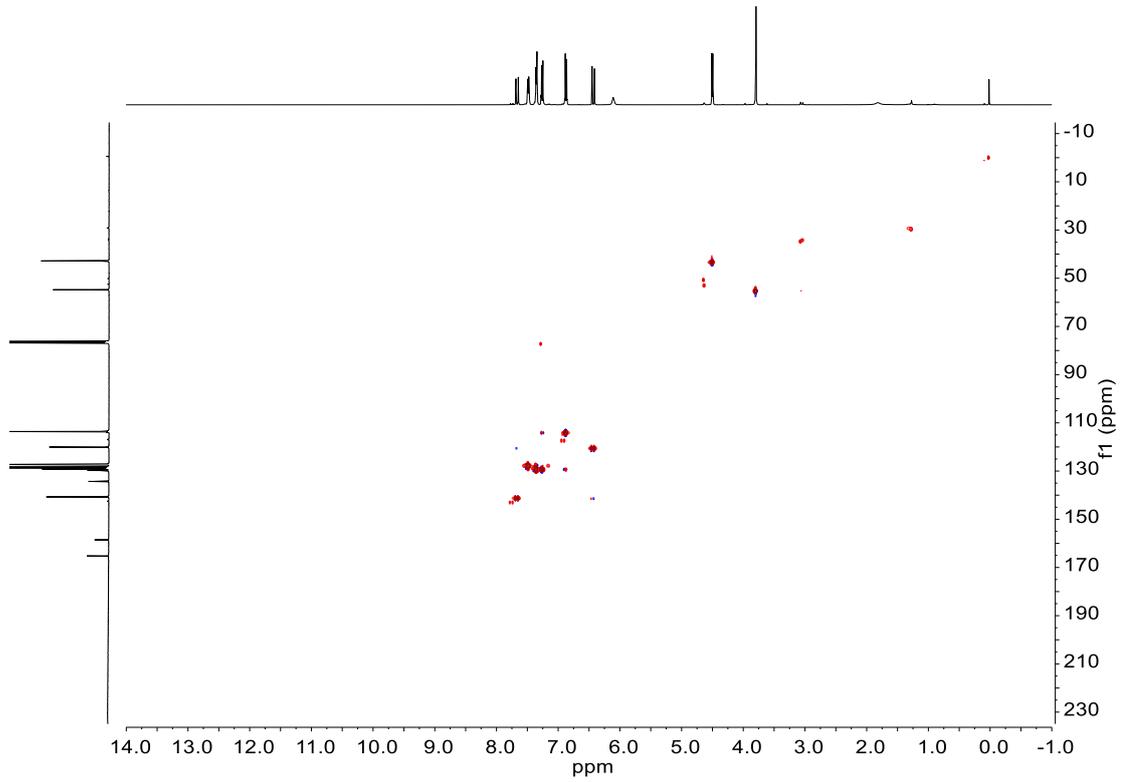
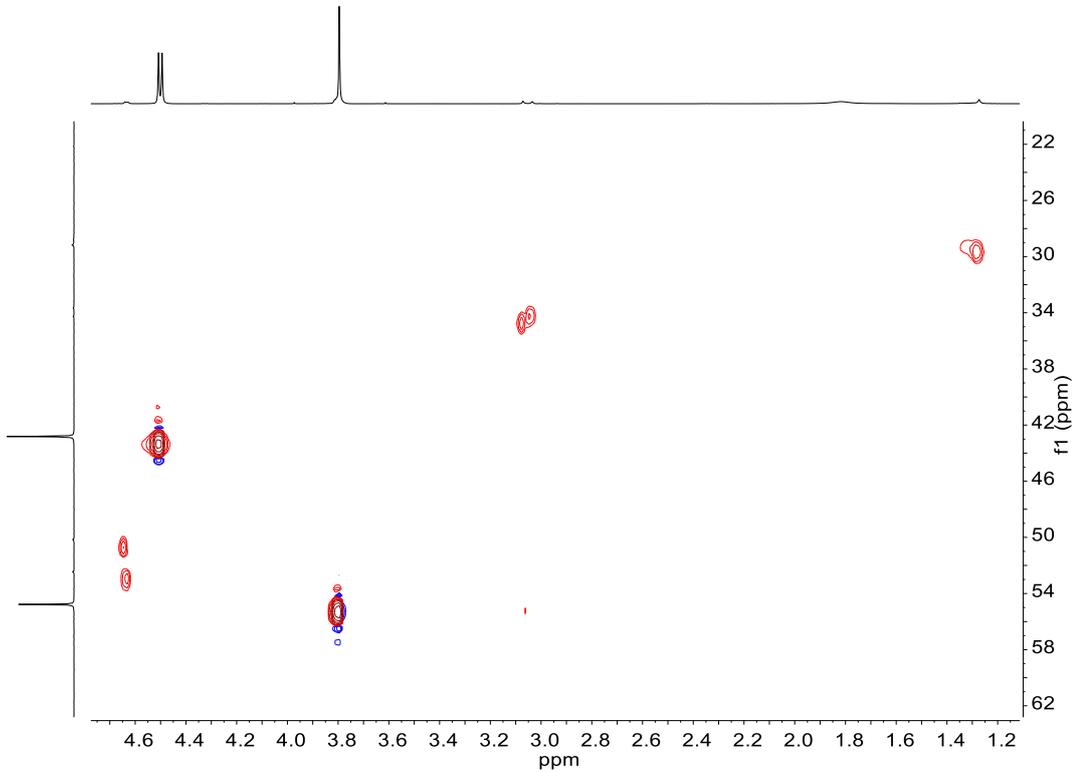
Figura 44. Ampliação do mapa de contorno HSQC de IV (δ 1,2–4,7).

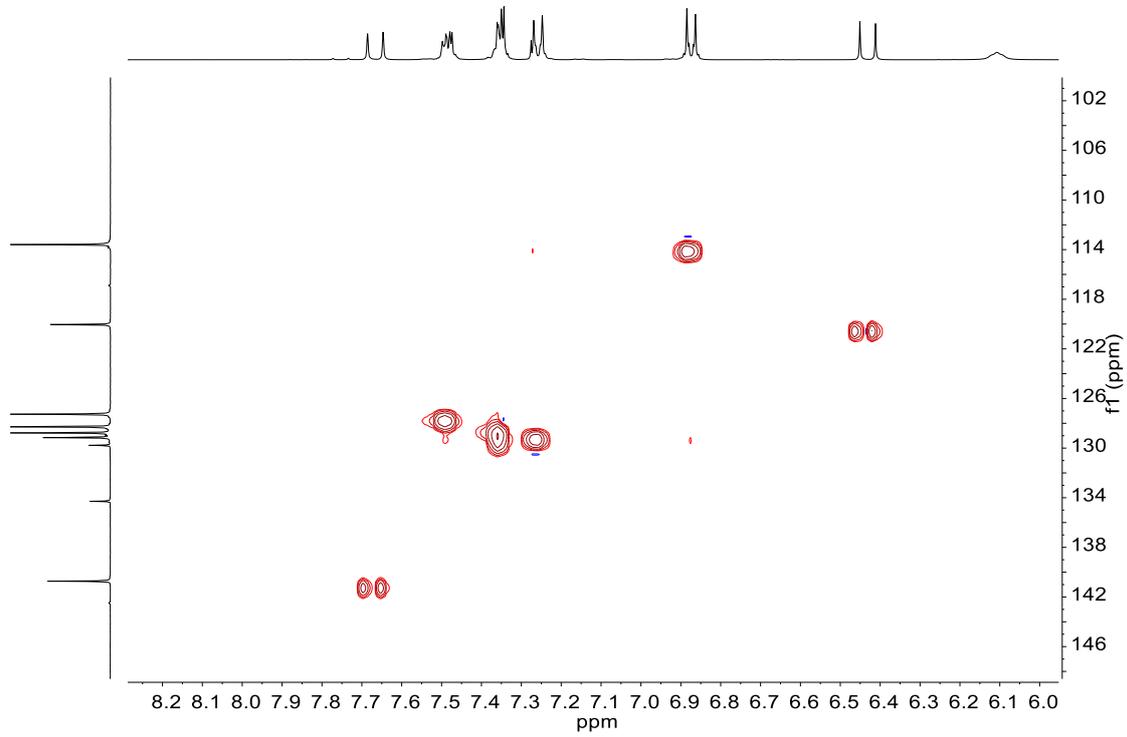
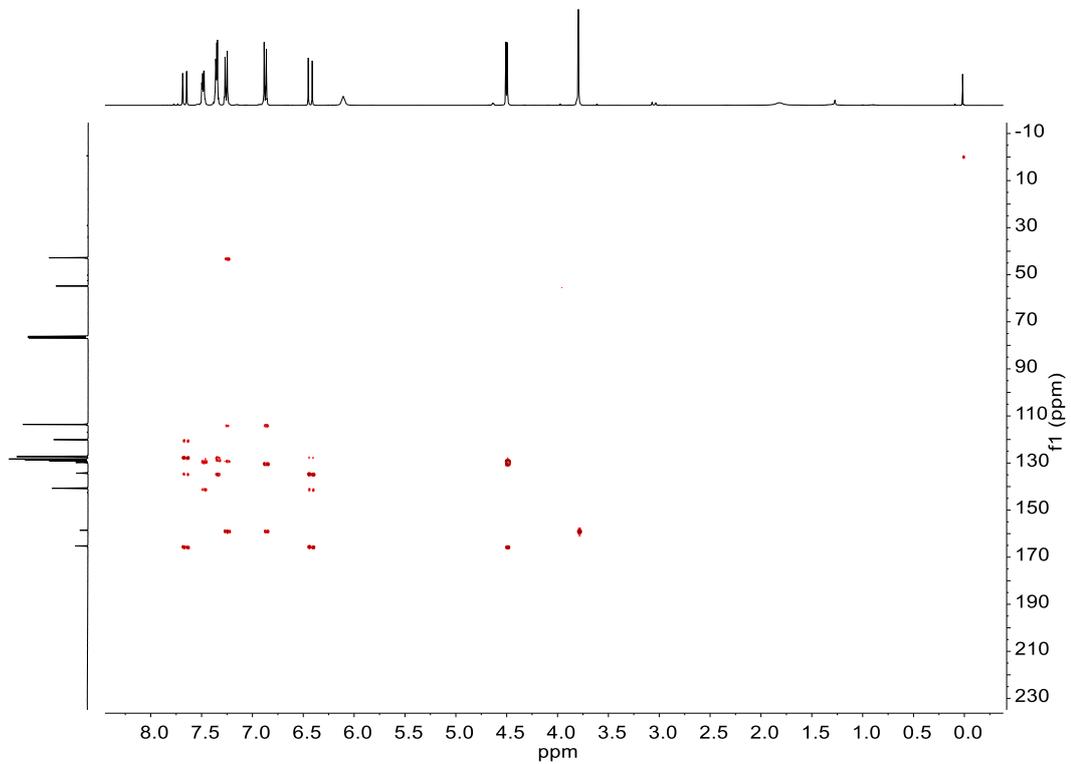
Figura 45. Ampliação do mapa de contorno HSQC de **IV** (δ 6,0–8,3).Figura 46. Mapa de contorno HMBC de **IV**.

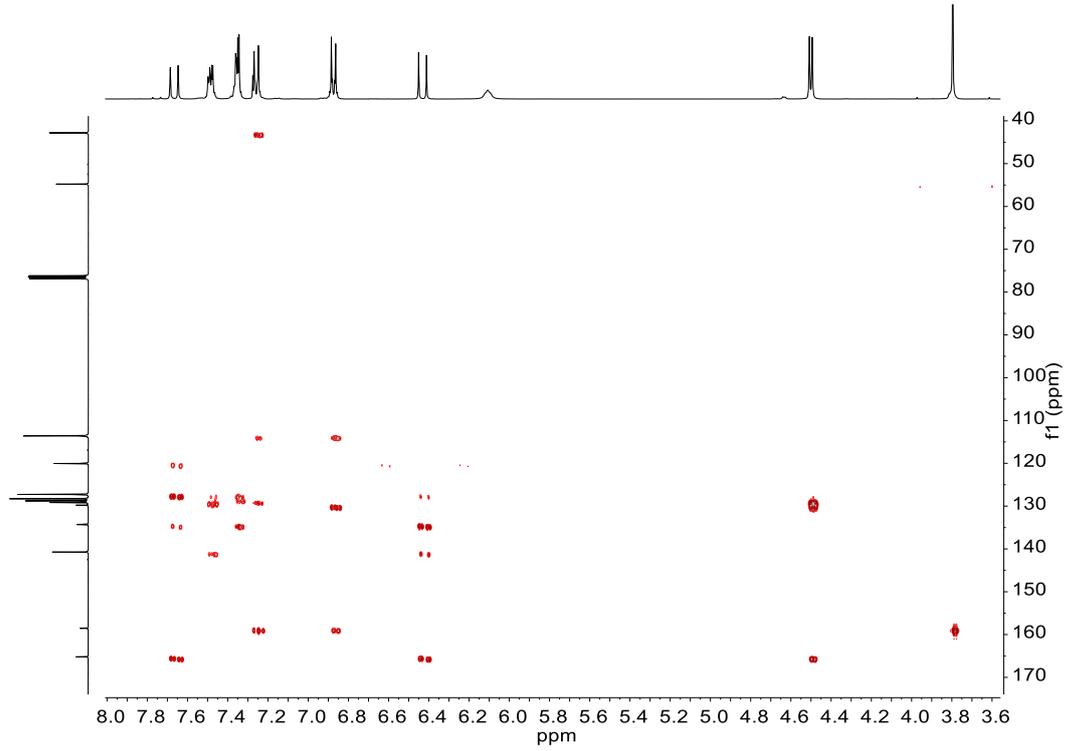
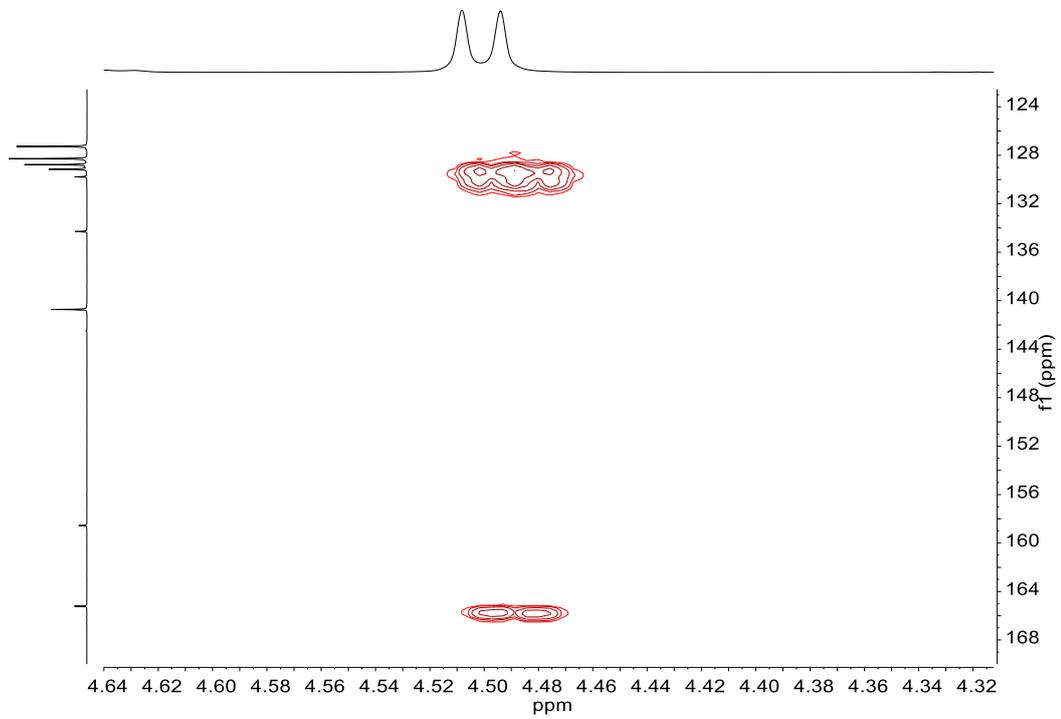
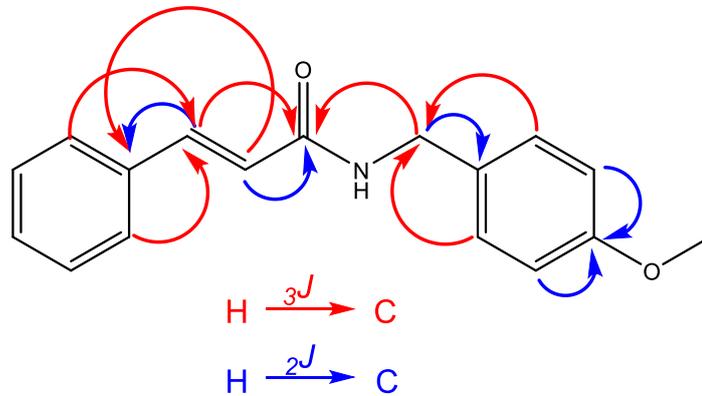
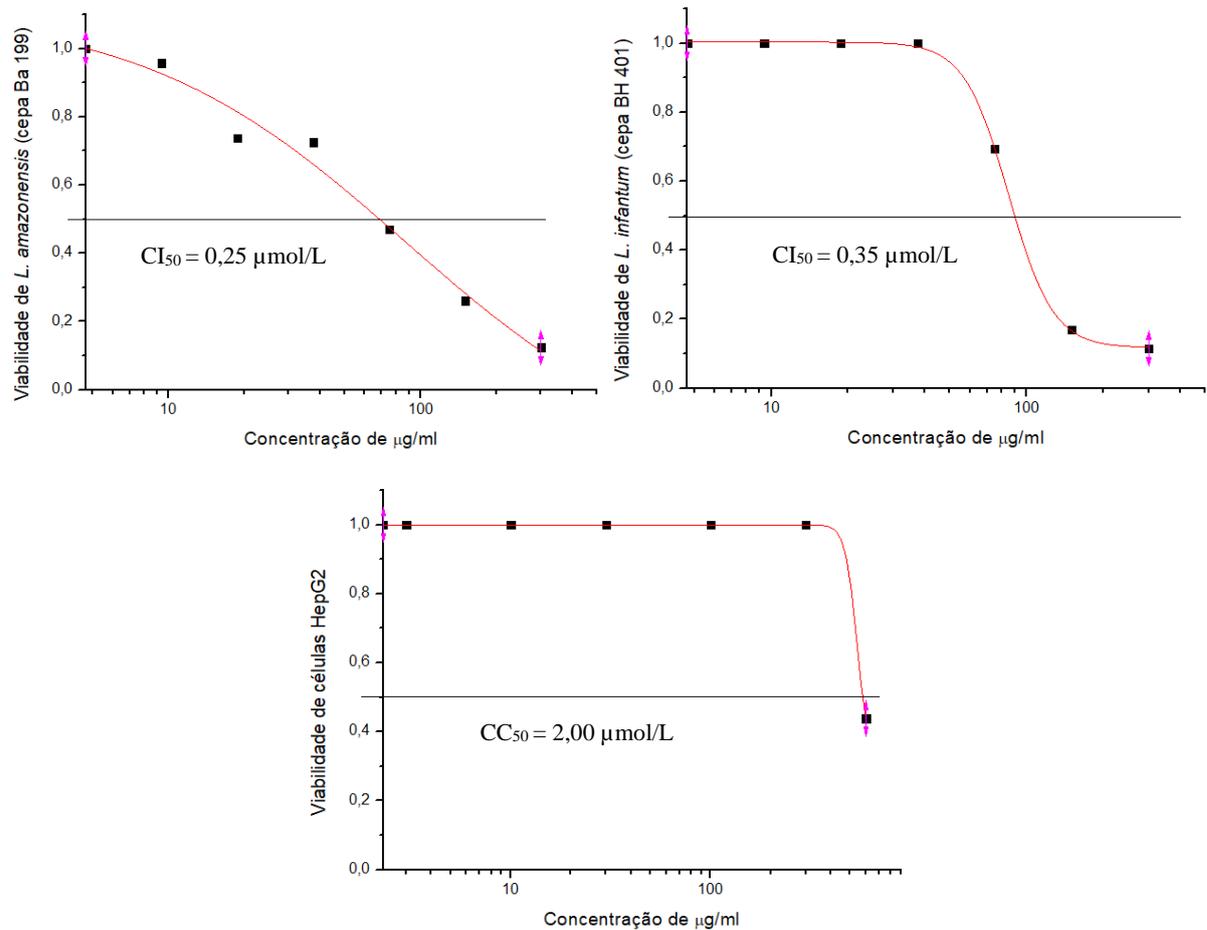
Figura 47. Ampliação do mapa de contorno HMBC de **IV** (δ 3,6–8,0).Figura 48. Ampliação do mapa de contorno HMBC de **IV** (δ 4,32–4,64).

Figura 49. Principais correlações H–C observadas no mapa de contorno HMBC de **IV**.



4.8 ENSAIOS BIOLÓGICOS PARA O COMPOSTO **IV**

Na Figura 50 é mostrado os resultados obtidos dos ensaios biológicos tanto referente aos parasitas (*L. amazonensis* e *L. infantum*) como também para os ensaios com células humana. Os resultados de CI_{50} e de CC_{50} foram obtidos por meio de regressão dos dados (Viabilidade *versus* Concentração) para a obtenção da concentração de **IV** teste afetando 50% da viabilidade dos parasitas/células.

Figura 50. Gráficos de regressão dos resultados *in vitro*.

Fonte: Autor, 2022.

A Tabela 7 mostra que **IV** apresentou efeito contra as duas espécies de *Leishmania* que foram testadas e apresentou uma baixa citotoxicidade em células HepG2 com valor de CC₅₀ igual 2,00 µmol/L. A anfotericina b foi utilizada como controle positivo do experimento.

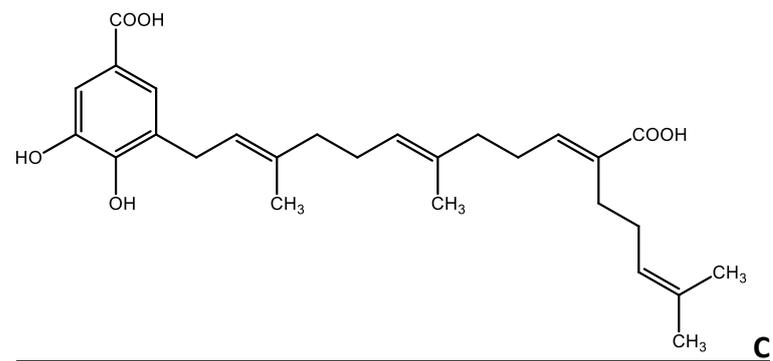
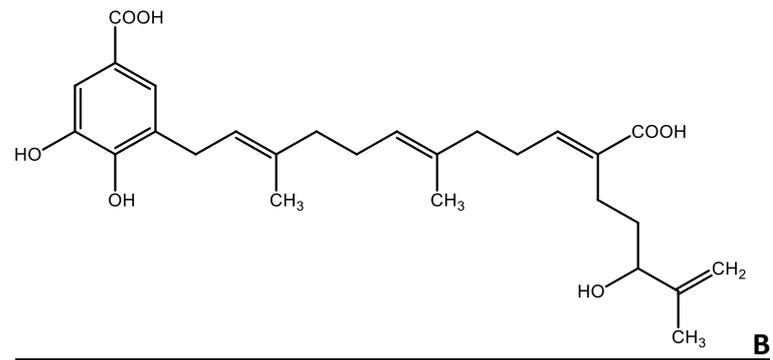
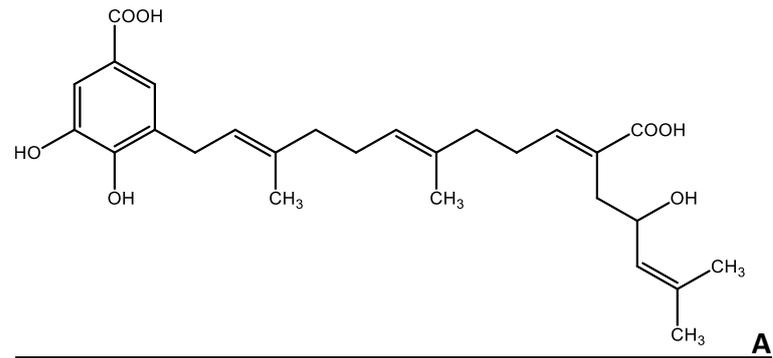
Tabela 7. Valores de CC₅₀ determinados para células HepG2, valores de CI₅₀ determinados para formas promastigotas de *L. infantum* e *L. amazonensis* e índice terapêutico (IT).

	CC ₅₀	CI ₅₀		IT	
	(µmol/L)	(µmol/L)		(CC ₅₀ /CI ₅₀)	
	HepG2	<i>L. amazonensis</i>	<i>L. infantum</i>	<i>L. amazonensis</i>	<i>L. infantum</i>
Produto IV	2,00	0,25	0,35	8,00	5,71
Anfotericina b	0,037	6,38 x 10 ⁻⁵	2,24 x 10 ⁻⁴	579,94	165,18

Fonte: Autor, 2022.

Os resultados obtidos mostram que o composto **IV** não apresenta CI_{50} comparável ao controle positivo (anfotericina b), porém o valor de citotoxicidade do produto **IV** (1999,31 $\mu\text{mol/L}$) supera consideravelmente o valor da anfotericina b (36,99 $\mu\text{mol/L}$), que é bastante tóxica. Desta forma, a janela terapêutica de **IV** é maior, possibilitando a utilização de doses maiores.

Cabe destacar que valores de CI_{50} semelhantes aos obtidos neste trabalho são considerados promissores como novas alternativas para o tratamento da Leishmaniose. Flores e colaboradores (2009) realizaram ensaios antiparasitários contra arginase *L. amazonensis* na forma promastigota de derivados de ácido benzóico, alguns destes derivados estão representados na Figura 51 (**A**, **B** e **C**). Estes derivados apresentaram os seguintes valores de CI_{50} : 0,13; 0,13 e 0,17 $\mu\text{mol/L}$, respectivamente, valores próximos aos obtidos para **IV**.

Figura 51. Moléculas com Cl₅₀ próximos ao produto IV.

Fonte: Autor, 2022.

5 CONCLUSÃO

A revisão bibliográfica de compostos com atividade enzimática para os alvos topoisomerase e arginase permitiu verificar quais características que auxiliam nas interações com esses receptores. No alvo topoisomerase, a aromaticidade está atrelada a uma maior afinidade mais especificamente aumentando possibilidades de compostos atuarem por intercalação na quebra da fita de DNA, pois os venenos de topoisomerase intercalantes são mais ativos clinicamente. No alvo arginase, o modelo gerado na modelagem por homologia (*L. amazonensis*) é de confiança de acordo com os parâmetros utilizados na plataforma SIWSS-MODEL, logo esta enzima é apta para a utilização no *docking* molecular. De acordo com a análise das interações das moléculas com mais afinidade com a *L. amazonensis* (maior seletividade), os íons de manganês com 68,42%, Ser150 com 42,11% e Asp141 com 42,11% que aparecem nas interações das moléculas seletivas ao alvo *Leishmania*. Logo há uma predominância de interações principalmente com os cofatores e que são essenciais para a atividade das arginases, desta forma é justificado a inibição realizada por essas moléculas. Esta característica de interação com os cofatores aparece novamente na triagem da base de dados do NuBBE, pois as moléculas com melhores afinidades com a arginase interagem com os cofatores, e a função ácido carboxílico é a predominante nessa interação.

Com base nos resultados obtidos *in silico*, foi observado que a molécula de ácido cafeico (16.2 e ID NuBBE 134) teve destaque em seu valor (-11,56 kcal/mol) de afinidade pelo alvo arginase (*L. amazonensis*) e, de forma similar, também a molécula do NuBBE 31 (ácido 3,4,5-trimetoxicinâmico), que tem atividade conhecida contra o parasita *L. amazonensis* e *L. brasiliensis* (NÓBREGA et al., 2019; CURY et al., 2015; RODRIGUES et al., 2019). Desta forma, foram planejados seis derivados do ácido cafeico/ácido cinâmico, sendo que o composto **IV** apresentou melhor afinidade pela arginase do parasita e foi sintetizado em 35% de rendimento.

De acordo com os resultados obtidos na dinâmica molecular o ligante 31 é mais estável no sítio de interação, realizando mais interações e por tempos mais longos, esse resultado também apresenta mesmo comportamento nos valores de *docking* molecular contra *L. amazonensis* obtidos, -12,23 kcal/mol e -5,57 kcal/mol para o ligante 31 e produto **IV**, respectivamente.

Os ensaios realizados contra *L. amazonenses* e *L. infantum*, mostraram valores de CI_{50} para **IV** de 0,25 e 0,35 $\mu\text{mol/L}$, respectivamente. Estes valores são promissores, já que o ensaio de citotoxicidade realizado em células HepG2 apresentou CC_{50} de 2,00 $\mu\text{mol/L}$. Desta forma, o presente trabalho contribui significativamente com o desenvolvimento de novas alternativas para o tratamento da Leishmaniose.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAHAM, M. J.; MURTOLA, T.; SCHULZ, R.; PÁLL, S; SMITH, J. C.; HESS, B.; LINDAHL, E. GROMACS: High performance molecular simulations through multi-level parallelism from laptops to supercomputers. **SoftwareX**, 1-2: 19-25, 2015.

ALECRIM, A. M. **Estudo químico-teórico de compostos naturais utilizados no combate a leishmania spp.** 2013. 133 f. Tese (Doutorado) - Curso de Programa de Pós-graduação em Química, Química, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2013.

BARRA, C. V.; NETTO, A. V. G. Interações entre complexos antitumorais e o dna e suas ferramentas de análise: um enfoque nos metalointercaladores. **Revista Virtual de Química**, v. 7, n. 6, p. 1998-2016, 2015.

BARREIRO, E. J.; MANSSOUR, C. A. **Aspectos gerais da ação dos fármacos.** In: BARREIRO, Eliezer Jesus. **Química Medicina: as bases moleculares da ação dos fármacos.** 3. ed. Porto Alegre: Artmed, p. 8-9, 2015.

BERENDSEN, H. J. C.; POSTMA, W. F. V. G.; DINOLA, A.; HAAK, J. R. Molecular dynamics with coupling to na external bath. **The journal of chemical physics**, v. 81, p. 3684-3690, 1984.

BERMAN, H. M.; WESTBROOK, J.; FENG, Z.; GILLILAND, G.; BHAT, T. N.; WEISSIG, H.; SHINDYALOV, I. N.; BOURNE, P. E. **The Protein Data Bank.** Nucleic Acids Research, v. 28, n. 1, p. 235-242, 2000.

BERNAL, F. A.; COY-BARRERA, E. In-silico analyses of sesquiterpene-related compounds on selected leishmania enzyme-based Targets. **Molecules**. p. 5550-5569, 2014.

BUSSI, G.; DONADIO, D.; PARRINELLO, M. Canocical smpling through velocity rescaling. **The journal of chemical physics**, v. 126, p. 1-7, 2007.

CABANILLAS, B. J.; LAMER, A.-C. L.; CASTILLO, D.; AREVALO, J.; ESTEVEZ, Y.; ROJAS, R.; VALADEAU, C.; BOURDY, G.; SAUVAIN, M.; FABRE, N. Dihydrochalcones and benzoic acid derivatives from piper dennisii. **Planta Medica**, v. 78, n. 9, p. 914-918, 2012.

CALVO, P. G. **Design, synthesis and biological evaluation of new organoseleno compounds as cytotoxic and leixhmanicidal agents.** 2018. 175 f. Tese (Doutorado) - Curso de Química, Departamento de Química Orgánica y Farmacéutica Facultad de Farmacia y Nutrición, Universidad de Navarra, Pamplona, 2018.

CARMO, R. F.; NUNES, B. E. B. R.; MACHADO, M. F.; ARMSTRONG, A. C.; SOUZA, C. D. F. Expansion of COVID-19 within Brazil: the importance of highways. **Journal of Travel Medicine**, v. 27, n. 5, p. 1-3, 2020.

CARVALHO, S. F. G.; VIEURA, T. M.; MOURA, A. P. V.; ANDRADE, M. Should an intersection between visceral leishmaniasis endemicity and the COVID-19 pandemic be considered? **Medical Hypotheses**, v. 144, 2020.

CHIBLI, L. A.; SCHMIDT, T. J.; NONATO, M. C.; CALIL, F. A.; DA COSTA, F. B. Natural products as inhibitors of *Leishmania major* dihydroorotate dehydrogenase. **European Journal of Medicinal Chemistry**, p. 1-40, 2018.

COLE, Jason C.; MURRAY, Christopher W.; NISSINK, 2 J. Willem M.; TAYLOR, Richard D.; TAYLOR, Robin. **Comparing Protein–Ligand Docking Programs is Difficult. Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics**, v. 60, p. 325-332, 2005. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/prot.20497>. Acesso em: 01 set. 2022.

COME, J. A. A. dos S. S. **Prospecção de novas moléculas naturais e sintéticas na inibição *in vitro* da arginase recombinante de *Leishmania (Leishmania) amazonensis***. 2019. 102 f. Tese (Doutorado) - Curso de Biociência Animal, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2019.

COUSINS, K. R. Computer review of ChemDraw Ultra 12.0. **Journal of the American Chemical Society**, v. 133, n. 21, p. 8388, 2011.

CHATELAIN, E.; IOSET, K. Drug discovery and development for neglected diseases: the DNDi model. **Drug Design, Development Therapy**, v. 5, p. 175-181, 2011.

CRUZ, E. de M.; DA SILVA, E. R.; MAQUIAVELI, C. do C.; ALVES, E. S. S.; LUCON JR, J. F.; DOS REIS, M. B.; DE TOLEDO, C. E. M.; CRUZ, F. G.; VANNIER-SANTOS, M. A. Leishmanicidal activity of *Cecropia pachystachya* flavonoids: arginase inhibition and altered mitochondrial DNA arrangement. **Phytochemistry**, v. 89, p. 71-77, 2013.

CUNNINGHAM, L. V.; KAZAN, B. H.; KUWAHARA, S. S. Effect of longchain fatty acids on some trypanosoma tid flagellates. **Journal of General Microbiology**, v. 70, p. 491-496, 1972.

CURY, T. A. C.; YONEDA, J. S.; ZULIANI, J. P.; SOARES, A. M.; STÁBELI, R. G.; CALDERON, L. de A.; CIANCAGLINI, P. Cinnamic acid derived compounds loaded into liposomes: antileishmanial activity, production standardisation and characterisation. **Journal of Microencapsulation**, p. 1464-5246, 2015.

D'ANTONIO, E. L.; ULLMAN, B.; ROBERTS, S. C.; DIXIT, U. G.; WILSON, M. E.; HAI, Y.; CHRISTIANSON, D. W. Crystal structure of arginase from *Leishmania mexicana* and implications for the inhibition of polyamine biosynthesis in parasitic infections. **Archives Of Biochemistry And Biophysics**, v. 535, p. 163-176, 2013.

DARDEN, T.; YORK, D.; PEDERSEN, L. Particle mesh Ewald: an N -log(N) method for Ewald sums in large systems. **The journal of chemical physics**, v. 98, n. 10089, p 10089-10092, 1993.

DAVIES, D. R.; MUSHTAQ, A.; INTERTHAL, H.; CHAMPOUX, J. J.; HOL, W.G. J. The structure of the transition state of the heterodimeric topoisomerase α of

Leishmania donovani as a vanadate complex with nicked dna. **Journal of Molecular Biology**, p.1202-1210, 2006.

DA SILVA, E. R.; BOECHAT, N.; PINHEIRO, L. C. S.; BASTOS, M. M.; COSTA, C. C. P.; BARTHOLOMEU, J. C.; DA COSTA, T. H. Novel selective inhibitor of Leishmania (Leishmania) amazonensis arginase. **Chemical Biology & Drug Design**, v. 5, n. 85, p. 969-978, 2015.

DA SILVA, E. R.; BROGI, S.; LUCON-JÚNIOR, J. F.; CAMPIANI, G.; GEMMA, S.; MAQUIAVELI, C. do C. Dietary polyphenols rutin, taxifolin and quercetin related compounds target Leishmania amazonensis arginase. **Food & Function**, v. 10, p. 3172-3180, 2019.

DA SILVA, E. R.; BROGI, S.; GRILLO, A.; CAMPIANI, G.; GEMMA, S.; VIEIRA, P. C.; MAQUIAVELI, C. do C. Cinnamic acids derived compounds with antileishmanial activity target Leishmania amazonensis arginase. **Chemical Biology & Drug Design**, v. 93, n. 2, p. 139-146, 2018.

DA SILVA, E. R.; MAQUIAVELI, C. do C.; MAGALHÃES, P. P. The leishmanicidal flavonols quercetin and quercitrin target Leishmania (Leishmania) amazonensis arginase. **Experimental Parasitology**, v. 130, p. 183-188, 2012.

DAVIS, A. J.; MURRAY, H. W.; HANDMAN, E. Drugs against leishmaniasis: a synergy of technology and partnerships. **Elsevier**, p. 73-76. out. 2004.

DE SOUSA, L. R. F.; RAMALHO, S. D.; BURGER, M. C. de M.; NEBO, L.; FERNANDES, J. B.; DA SILVA, M. F. das G. F.; IEMMA, M. R. da C.; CORRÊA, C. J.; DE SOUZA, D. H. F.; LIMA, M. I. S.; VIEIRA, P. C. Isolation of Arginase Inhibitors from the Bioactivity-Guided Fractionation of Byrsonima coccolobifolia Leaves and Stems. **Journal of Natural Products**, v. 77, p. 392-396, 2014.

DOS REIS, M. B. G.; MANJOLIN, L. C.; MAQUIAVELI, C. do C.; SANTOS-FILHO, O. A.; DA SILVA, E. R. Inhibition of leishmania (leishmania) amazonensis and rat arginases by green tea egcg, (+)-catechin and (2)-epicatechin: a comparative structural analysis of enzyme-inhibitor interactions. **Plos One**, v. 8, n. 11, p. 1-9, 2013.

DOS SANTOS, T. B. S. **Avaliação do potencial imunomodulador de moléculas relacionadas a inibição da arginase no tratamento da leishmaniose tegumentar**. 2019. 78 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Patologia Humana, Faculdade de Medicina Fundação Oswaldo Cruz Instituto Gonçalo Moniz, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2019.

ESSMANN, T.; PERERA, L.; BERKOWITZ, M. L. A smooth particle mesh Ewald method. **The journal of chemical physics**, v. 103, n. 19, p 8577-8593, 1995.
FEITOSA, L. M; DA SILVA, E. R.; HOELZ, L. V. B.; SOUZA, D. L.; COME, J. A. A. S. S.; CARDOSO-SANTOS, C.; BATISTA, M. M.; SOEIRO, M. de N. C.; BOECHAT, N.; PINHEIRO, L. C. S. New pyrazolopyrimidine derivatives as Leishmania amazonensis arginase inhibitors. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 27, p. 3061-3069, 2019.

FERREIRA, C.; SOARES, D. C.; BARRETO-JUNIOR, C. B.; NASCIMENTO, M. T.; FREIRE-DE-LIMA, L.; DELORENZI, J. C.; LIMA, M. E. F.; ATELLA, G. C.; FOLLY, E.; CARVALHO, T. M. U.; SARIVA, E. M.; PINTO-DA-SILVA, L. H. Leishmanicidal effects of piperine, its derivatives, and analogues on *Leishmania amazonensis*. **Phytochemistry**, v. 72, p. 2155-2164, 2011.

FERREIRA, L. G.; DOS SANTOS, R. N.; OLIVA, G.; ANDRICOPULO, A. D. Molecular *docking* and structure-based drug design strategies. **Molecules**. p. 13384-13421. 2015.

FERREIRA, M. G. P. R.; KAYANO, A. M.; SILVA-JARDIM, I.; DA SILVA, T.; ZULIANI, J. P.; FACUNDO, V. A.; CALDERON, L. de A.; DE ALMEIDA-E-SILVA, A.; CIANCAGLINI, P.; STÁBELI, R. G. Antileishmanial activity of 3-(3,4,5-trimethoxyphenyl) propanoic acid purified from Amazonian *Piper tuberculatum* Jacq., Piperaceae, fruits. **Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 20, n. 6, p. 1003-1006, 2010.

FIEL, M. C.; HORN, D.; FAIRLAMB, A. H.; FERGUSON, M. A. J.; GRAY, D. A. J.; READ, K. D.; DE RYCKER, M.; TORRIE, L. S.; WYATT, P. G.; WYLLIE, S.; GILBERT, I. H. Anti-trypanosomatid drug discovery: an ongoing challenge and a continuing need. **Nature reviews | Microbiology**, v. 15, p. 217-231, 2017.

FIGUEIREDO, K. A.; FIGUEIREDO, J. F. S.; COSTA, R. K. M.; ALVES, M. M. M.; Magalhães, J. L.; Carvalho, A. L. M.; LIMA, F. C. A. Prospecção de Alvos Bioquímicos Para Estudo *in silico* na Quimioterapia Antileishmania. **Revista Virtual de Química**, v. 10, n. 5, 2018.

FLORES, N.; JIMÉNEZ, I. A.; GIMENÉZ, A.; RUIZ, G.; GUTIÉRREZ, D.; BOURDY, G.; BAZZOCCHI. Antiparasitic activity of prenylated benzoic acid derivatives from piper species. **Phytochemistry**, v. 70, p. 621-627, 2009.

GARCIA, A. R.; OLIVEIRA, D. M. P.; AMARAL, A. C. F.; JESUS, J. B.; SODERO, A. C. R.; SOUZA, A. M. T.; SUPURAN, C. T.; VERMELHO, A. B.; RODRIGUES, I. A.; PINHEIRO, A. S. *Leishmania infantum* arginase: biochemical characterization and inhibition by naturally occurring phenolic substances. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, v. 34, n. 1, p. 1100-1109, 2019.

HANWELL, M. D.; CURTIS, D. E.; LONIE, D. C.; VANDERMEERSCH, T.; ZUREK, E.; HUTCHISON, G. R. Avogadro: an advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform. **Journal Of Cheminformatics**, v. 17, n. 4, 2012.

HOCKNEY, R. W.; GOEL, S. P.; EASTWOOD, J. W. Quiet high-resolution computer models of a plasma. **The journal of chemical physics**, v.14, p. 148-158, 1974.

IMAMURA, K. B. **Estudo do mecanismo de ação do μ -diazidobis(N,N-dimetilbenzilamina)dipaládio(II) (CP2) sobre o metabolismo de *Leishmania amazonensis* (kinetoplastida, trypanosomatidae)**. 2018. 67 f. Tese (Doutorado) - Curso de Biotecnologia, Universidade Estadual Paulista Campus de Araraquara Programa de Pós-graduação em Biotecnologia, Araraquara, 2018.

JORGE, P. M. **Introdução de parada no ciclo celular e apoptose pelo ditelureto de difenila: uma possível relação com inibição de enzimas topoisomerases.** 2012. 106 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Biologia Celular e Molecular, Programa de Pós-graduação em Biologia Celular e Molecular, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.

JORGENSEN, W. L.; MAXWELL, D.; TIRADO-RIVES, J. Development and testing of the OPLS all-atom force field on conformational energetics and properties of organic liquids. **Journal of American Chemical Society**, v. 45, n.118, p. 11225-11236, 1996.

KAUR, A.; SINGH, R.; DEY, C. S.; SHARMA, S. S.; BHUTANI, K. K.; SINGH, I. P. Antileishmanial phenylpropanoids from alpinia galanga (linn.) Willd. **Indian Journal of Experimental Biology**, v. 48, p. 314-317, 2010.

KAUR, A.; KAUR, P. K.; SINGH, S.; SINGH, I. P. Antileishmanial compounds from moringa oleifera lam. **Zeitschrift Fur Naturforschung C**, v. 69, p. 110-116, 2014.

KIM, I., HEIRTZLER, F. R., MORISSEAU, C., NISHI, K., TSAI, H., HAMMOCK, B. D. Optimization of amide-based inhibitors of soluble epoxide hydrolase with improved water solubility. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 48, n. 10, p. 3621-3629, 2005.

LIMA, E. C. de; CASTELO-BRANCO, F. S.; MAQUIAVELI, C. C.; FARIAS, A. B.; RENNÓ, M. N.; BOECHAT, N.; SILVA, E. R. Phenylhydrazides as inhibitors of *Leishmania amazonensis* arginase and antileishmanial activity. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, p. 1-7, 2019.

MANJOLIN, L. C.; REIS, M. B. G.; MAQUIAVELI, C. do C.; SANTOS-FILHO, O. A.; DA SILVA, E. R. Dietary flavonoids fisetin, luteolin and their derived compounds inhibit arginase, a central enzyme in *Leishmania (Leishmania) amazonensis* infection. **Food Chemistry**, v. 141, p. 2253-2262, 2013.

MARTINS, A. L. G. P.; CLETO, N. G.; MARTINS, A. C. G. P.; TEIXEIRA, L. O.; SILVA, Carlos M. G. C. H.; SOARES, C. T. Leishmaniose mucocutânea: dificuldade diagnóstica em lesão crônica. **Hansenologia Internationalis**, v. 36, p 47-50, 2011.

MENDONÇA, P. dos S. **Isolamento e caracterização de neolignan das folhas da *Nectandra leucantha* NEES & MART. (lauraceae) com atividade antiparasitária.** 2018. 39 f. TCC (Graduação) - Curso de Bacharel em Química, Centro de Ciências Naturais e Humanas da Universidade Federal do Abc, Santo André, 2018.

MIOTTI, A. M.; PATACCA, A.; GROSSO, C.; CRISTINI, F. COVID-19 in a Patient with Visceral Leishmaniasis. **Journal of Infectious Diseases & Therapy**, v. 8, n. 4, p. 1-2, 2020.

MONZOTE, L.; CÓRDOVA, W. H. P.; GARCÍA, M.; PIÑÓN, A.; SETZER, W. N. In-vitro and in-vivo activities of phenolic compounds against cutaneous leishmaniasis. **Records of Natural Products**, v. 10, n. 3, p. 269-276, 2016.

MORAES NETO, R. N.; SETÚBAL, R. F. B.; HIGINO, T. M.; BRELAZ-de-CASTRO, M. C. A.; DA SILVA, L. C. N.; ALIANÇA, A. S. dos S. Asteraceae plants as sources of compounds against leishmaniasis and chagas disease. **Frontiers In Pharmacology**, v. 10, p. 1-20, 2019.

NAMBA, A. M.; SILVA, V. B. da; SILVA; C. H. T. P. da. Dinâmica molecular: teoria e aplicações em planejamento de fármacos. **Eclética Química**, nº 4, v. 33, p. 13-23, 2008.

NITISS, J. L. Targeting dna topoisomerase II in cancer chemotherapy. **Nature**, v. 9, p. 338-350, 2009.

NÓBREGA, F. R.; SILVA, L. V.; DA BEZERRA FILHO, C. S. M.; LIMA, T. C.; CASTILLO, Y. P.; BEZERRA, D. P.; LIMA, T. K. S.; DE SOUSA, D. P. Design, antileishmanial activity, and qsar studies of a series of piplartine analogues. **Journal of Chemistry**, p. 1-12, 2019.

OGUNGBE, I. V.; NG, J. D; SETZER, W. N. Interactions of antiparasitic alkaloids with Leishmania protein targets: a molecular *docking* analysis. **Future Medicinal Chemistry**, p. 1777-17799. 2013.

OGUNGBE, I. V.; SETZER, W. N. In-silico leishmania target selectivity of antiparasitic terpenoids. **Molecules**. p. 7761-7847. 2013.

OMS. **OMS lança plano de 10 anos para acabar com sofrimento causado por doenças tropicais negligenciadas**. 2021. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/noticias/29-1-2021-oms-lanca-plano-10-anos-para-acabar-com-sofrimento-causado-por-doencas-tropicais>. Acesso em: 21 abr. 2021.

PANDEY, R. K.; KUMBHAR, B. V.; SUNDAR, S.; KUNWAR, A.; PRAJAPATI, V. K. Structure-based virtual screening, molecular *docking*, ADMET and molecular simulations to develop benzoxaborole analogs as potential inhibitor against Leishmania donovani trypanothione reductase. **Journal of Receptors and Signal Transduction**, p. 1532-4281. 2016.

PARRINELLO, M.; RAHMAN, A. Polymorphic transitions in single crystals: a new molecular dynamics method. **The journal of applied physics**, v. 52, n. 12, p. 7182-7190, 1981.

PESSOA, Z. S.; TEIXEIRA, R. L. P.; CLEMENTINO, M. do L. M. Interfaces between vulnerabilities, governance, innovation and capacity of response to covid-19 in brazilian northeast. **Ambiente & Sociedade**, v. 23, n., p. 1-13, 2020.

PINHEIRO, I. M.; CARVALHO, I. P.; DE CARVALHO, C. E. S.; BRITO, L. M.; DA SILVA, A. B. S.; JÚNIOR, A. M. C.; DE CARVALHO, F. A. A.; CARVALHO, A. L. M. Evaluation of the in vivo leishmanicidal activity of amphotericin B emulgel: an alternative for the treatment of skin leishmaniasis. **Experimental Parasitology**, 2016.

PILON, A. C.; VALLI, M.; DAMETTO, A. C.; PINTO, M. E. F.; FREIRE, R. T.; CASTRO-GAMBOA, I.; ANDRIOCOPULO, A. D.; BOLZANI, V. S. NuBBEDB: an

updated database to uncover chemical and biological information from Brazilian biodiversity. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 7215, 2017.

POMMIER, Y. Topoisomerase I inhibitors: camptothecins and beyond. **Nature Reviews**, v. 6, p.789-802, 2006.

POMMIER, Y. DNA topoisomerase I inhibitors: chemistry, biology and interfacial inhibition. **Chemical Reviews**, v. 7, n. 109, p.2894-2902, 2009.

RAJASEKARAN, R.; CHEN, Y. P. Potential therapeutic targets and the role of technology in developing novel antileishmanial drugs. **Elsevier**, v. 20, n. 8, p.958-968, 2015.

RODRIGUES, A. C. **Estudo químico das pétalas, folhas, cálices e sementes de hibiscus sabdariffa L.** 2017. 71 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pós-graduação Multicêntrico em Química de Minas Gerais, Química, Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, 2017.

RODRIGUES, M. P.; TOMAZ, D. C.; DE SOUZA, L. Â.; ONOFRE, T. S.; MENEZES, W. A.; ALMEIDA-SILVA, J.; SUAREZ-FONTES, A. M.; DE ALMEIDA, M. R.; DA SILVA, A. M.; BRESSAN, G. C.; VANNIER-SANTOS, M. A.; FIETTO, J. L. R.; TEIXEIRA, R. R. Synthesis of cinnamic acid derivatives and leishmanicidal activity against *Leishmania braziliensis*. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 183, p. 1-14, 2019.

RODRIGUES, R. P.; MANTOANI, S. P.; DE ALMEIDA, J. R.; PINSETTA, Flávio R.; SEMIGUINI, E. P.; DA SILVA, V. B.; DA SILVA, C. H. T. P. Estratégias de Triagem Virtual no Planejamento de Fármacos. **Revista Virtual de Química**, v. 4, n. 6, p. 739-776, 2012.

SANNER, M. F. Python: a programming language for software integration and development. **Journal of Molecular Graphics & Modelling**, v. 17, n. 1, p. 57-61, 1999.

SANOFI-AVENTIS FARMACÊUTICA LTDA. **GLUCANTIME® (antimoniato de meglumina) Sanofi-Aventis Farmacêutica Ltda. Solução injetável 300 mg/ mL.** SANOFI, 2015.

SANTOS FILHO, Osvaldo Andrade; ALENCASTRO, Ricardo Bicca de. Modelagem de Proteínas por Homologia. **Química Nova**, v. 26, n. 2, p. 253-259, 2003.

Disponível em:

<https://www.scielo.br/j/qn/a/phHhSHJNSJCTDYfGRzgfkt/?lang=pt#:~:text=A%20modelagem%20por%20homologia%20pode,estudos%20relacionados%20com%20os%20genomas..> Acesso em: 22 junho 2019.

SCOTTI, L.; ISHIKI, H.; JÚNIOR, F. J. B. M.; SCOTTI, M. T. In-silico analyses of natural products on leishmania enzyme targets. **Mini-reviews In Medicinal Chemistry**. p. 253-269. 2015.

SHARMA, G.; CHOWDHURY, S.; SINHA, S.; MAJUMDER, H. K.; KUMAR, S. V. Antileishmanial activity evaluation of bis-lawsone analogs and DNA topoisomerase-I inhibition studies. **Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry**, v. 29, n. 2, p. 185-189, 2013.

SILVA, M.; NAPOLITANO, H. B.; ELLENA, J.; ROCHA, W. C.; VIEIRA, P. C.; OLIVA, G.; THIEMANN, O. H. 3-(5,7-Dimethoxy-2,2-dimethyl-2H-benzo[b]-pyran-6-yl)propionic acid: a potential inhibitor against Leishmania. **Organic Papers**, p. 1575-1577, 2003.

SINGH, I. P.; JAIN, S. K.; KAUR, A.; SINGH, S.; KUMAR, R.; GARG, P.; SHARM, S. S.; ARORA, Sunil K. Synthesis and antileishmanial activity of piperoyl - amino acid conjugates. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, n. 8, p. 3439-3445, 2010.

SINGH, N.; KUMAR, M.; SINGH, R. K. Leishmaniasis: Current status of available drugs and new potential drug targets. **Elsevier**, p. 485-497. 2012.

TAKAHASHI, L. M. **Planejamento e síntese de derivados aromáticos com potencial leishmanicida**. 2019. 159 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pós-graduação Multicêntrico em Química de Minas Gerais, Química, Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, 2019.

TEJERÍA, A.; PÉREZ-PERTEJO, Y.; REGUERA, R. M.; BALAÑA-FOUCE, R.; ALONSO, C.; FUERTES, M.; GONZÁLEZ, M.; RUBIALES, G.; PALACIOS, F. Antileishmanial effect of new indeno-1,5-naphthyridines, selective inhibitors of Leishmania infantum type IB DNA topoisomerase. **Elsevier**, p. 740-749. 2016.

TERNAVISK, R. R.; HERNÁNDEZ, G. A.; CUSTÓDIO, J. M. F.; CAMARGO, A. J.; NAPOLITANO, H. B. Uma revisão sistemática sobre interações de halogênio em derivados de nitrobenzeno substituídos. **Revista processos químicos**, p. 23-30, 2019.

VALLI, M.; DOS SANTOS, R. N.; FIGUEIRA, L. D.; NAKAJIMA, C. H.; CASTRO-GAMBOA, I.; ANDRICOPULO, A. D.; BOLZANI, V. S. Development of a Natural Products Database from the Biodiversity of Brazil. **Journal of Natural Products**, v. 76, p. 439-444, 2013.

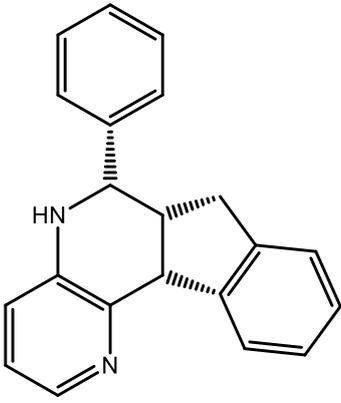
WATERHOUSE, A.; BERTONI, M.; BIENERT, S.; STUDER, G.; TAURIELLO, G.; GUMIENNY, R.; HEER, F. T.; DE BEER, T. A. P.; REMPFER, C.; BORDOLI, L.; LEPORE, R.; SCHWEDE, T. SWISS-MODEL: homology modelling of protein structures and complexes. **Nucleic Acids Research**, 46, p.296-303, 2018.

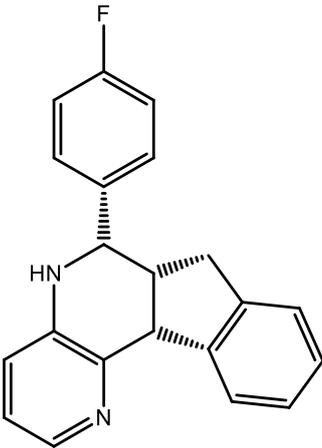
WHO, 2019. Disponível em: <<http://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis/>> Acessado em 19 de abril de 2019.

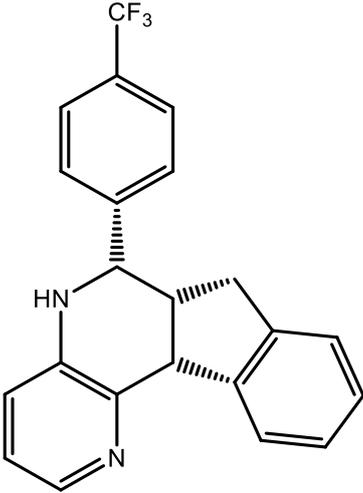
ZUCCA, M.; SCUTERA, S.; SAVOIA, D. New chemotherapeutic strategies against Malaria, Leishmaniasis and Trypanosomiasis. **Current Medicinal Chemistry**, v. 20, p. 502-526, 2013.

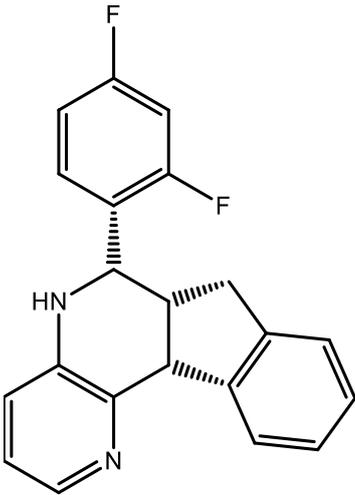
ANEXO A

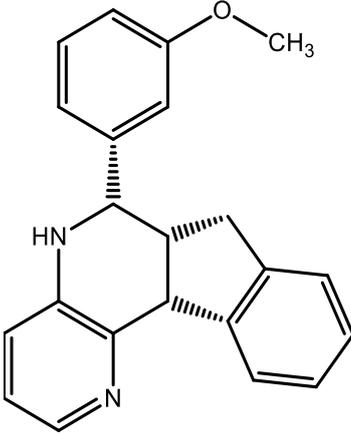
Tabela A. *Docking* de inibidores topoisomerase 1B *L. infantum* e *L. donovani*.

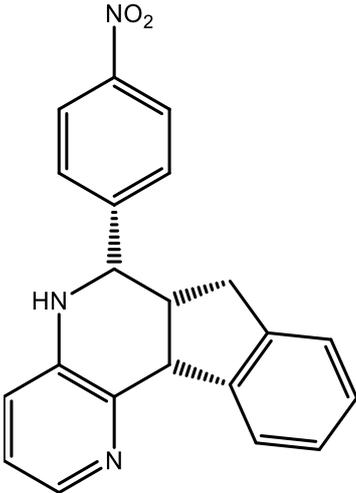
Estrutura:	
Identificação	Molécula 1.1
Nome	(6S,6aR,11bR)-6-fenil-6,6a,7,11b-tetrahidro-5H-indeno[2,1-c][1,5]naftiridina
Obtenção	Sintética
Cl ₅₀	45,21 µmol/L
Contra	<i>L. infantum</i> topoisomerase 1B
Fonte	TEJERA et al., 2016
Cl ₅₀	46,55 µmol/L
Contra	Humana topoisomerase 1B
Fonte	TEJERA et al., 2016

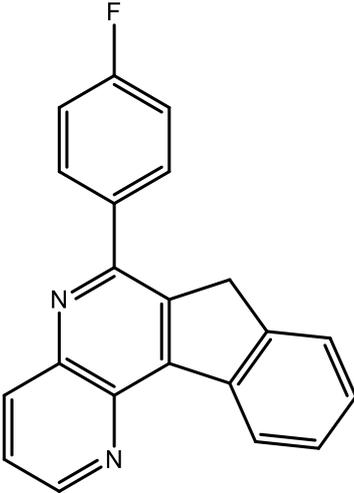
Estrutura:	
Identificação	Molécula 2.1
Nome	(6S,6aR,11bR)-6-(4-fluorofenil)-6,6a,7,11b-tetrahydro-5H-indeno[2,1-c][1,5]naftiridina
Obtenção	Sintética
Cl ₅₀	48,96 µmol/L
Contra	<i>L. infantum</i> topoisomerase 1B
Fonte	TEJERA et al., 2016
Cl ₅₀	Nenhuma inibição
Contra	Humana topoisomerase 1B
Fonte	TEJERA et al., 2016

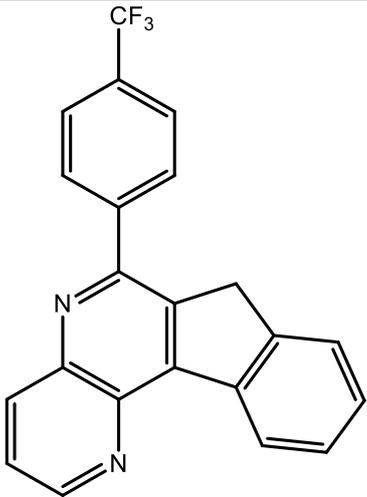
Estrutura:	
Identificação	Molécula 3.1
Nome	(6S,6aR,11bR)-6-(4-(trifluorometil)fenil)-6,6a,7,11b-tetrahidro-5H-indeno[2,1-c][1,5]naftiridina
Obtenção	Sintética
Cl ₅₀	60,59 µmol/L
Contra	<i>L. infantum</i> topoisomerase 1B
Fonte	TEJERA et al., 2016
Cl ₅₀	22,35 µmol/L
Contra	Humana topoisomerase 1B
Fonte	TEJERA et al., 2016

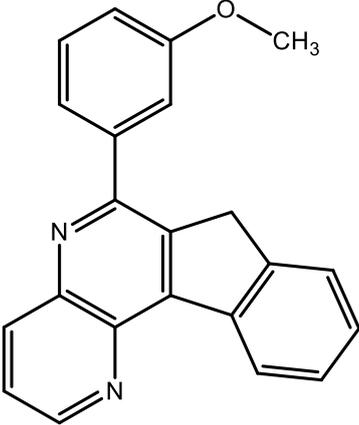
Estrutura:	
Identificação	Molécula 4.1
Nome	(6S,6aR,11bR)-6-(2,4-difluorofenil)-6,6a,7,11b-tetrahydro-5H-indeno[2,1-c][1,5]naftiridina
Obtenção	Sintética
Cl ₅₀	41,75 µmol/L
Contra	<i>L. infantum</i> topoisomerase 1B
Fonte	TEJERA et al., 2016
Cl ₅₀	Nenhuma inibição
Contra	Humana topoisomerase 1B
Fonte	TEJERA et al., 2016

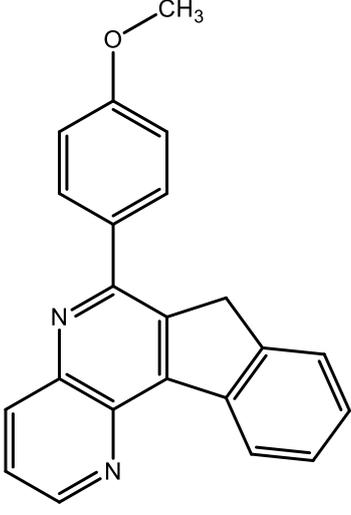
Estrutura:	
Identificação	Molécula 5.1
Nome	(6S,6aR,11bR)-6-(3-metoxifenil)-6,6a,7,11b-tetrahydro-5H-indeno[2,1-c][1,5]naftiridina
Obtenção	Sintética
Cl ₅₀	21,77 μmol/L
Contra	<i>L. infantum</i> topoisomerase 1B
Fonte	TEJERA et al., 2016
Cl ₅₀	Nenhuma inibição
Contra	Humana topoisomerase 1B
Fonte	TEJERA et al., 2016

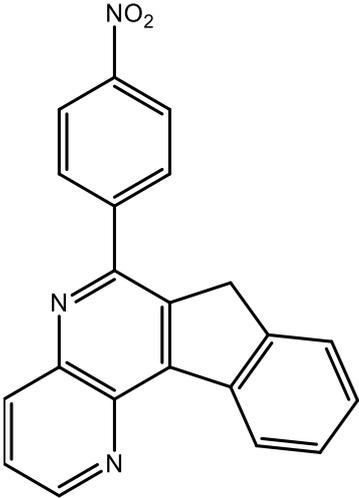
Estrutura:	
Identificação	Molécula 6.1
Nome	(6S,6aR,11bR)-6-(4-nitrofenil)-6,6a,7,11b-tetrahydro-5H-indeno[2,1-c][1,5]naftiridina
Obtenção	Sintética
Cl ₅₀	100,01 µmol/L
Contra	<i>L. infantum</i> topoisomerase 1B
Fonte	TEJERA et al., 2016
Cl ₅₀	10,72 µmol/L
Contra	Humana topoisomerase 1B
Fonte	TEJERA et al., 2016

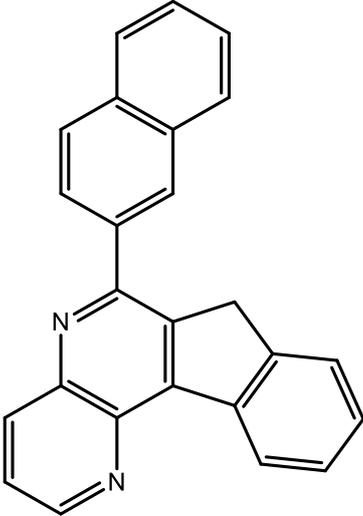
Estrutura:	
Identificação	Molécula 7.1
Nome	6-(4-fluorofenil)-7H-indeno[2,1-c][1,5]naftiridina
Obtenção	Sintética
Cl ₅₀	14,66 µmol/L
Contra	<i>L. infantum</i> topoisomerase 1B
Fonte	TEJERA et al., 2016
Cl ₅₀	87,69 µmol/L
Contra	Humana topoisomerase 1B
Fonte	TEJERA et al., 2016

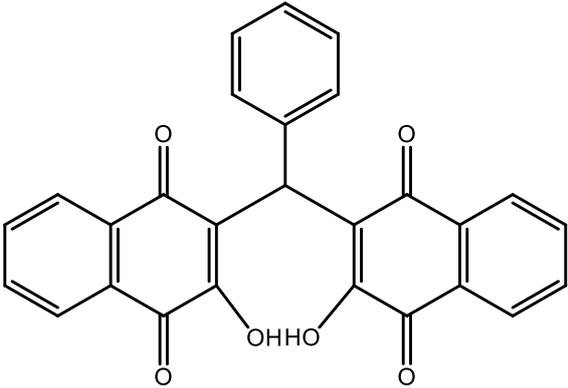
Estrutura:	
Identificação	Molécula 8.1
Nome	6-(4-(trifluorometil)phenyl)-7H-indeno[2,1-c][1,5]naftiridina
Obtenção	Sintética
Cl ₅₀	23,62 µmol/L
Contra	<i>L. infantum</i> topoisomerase 1B
Fonte	TEJERA et al., 2016
Cl ₅₀	27,46 µmol/L
Contra	Humana topoisomerase 1B
Fonte	TEJERA et al., 2016

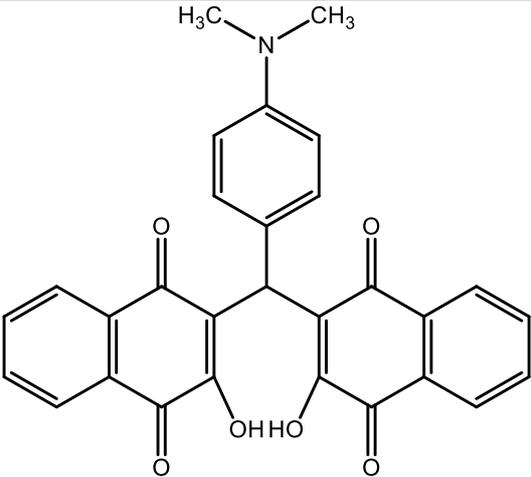
Estrutura:	
Identificação	Molécula 9.1
Nome	6-(3-metoxifenil)-7H-indeno[2,1-c][1,5]naftiridina
Obtenção	Sintética
Cl ₅₀	29,50 µmol/L
Contra	<i>L. infantum</i> topoisomerase 1B
Fonte	TEJERA et al., 2016
Cl ₅₀	Nenhuma inibição
Contra	Humana topoisomerase 1B
Fonte	TEJERA et al., 2016

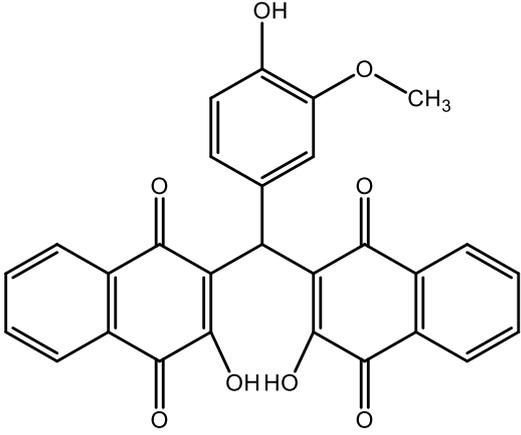
Estrutura:	
Identificação	Molécula 10.1
Nome	6-(4-metoxifenil)-7H-indeno[2,1-c][1,5]naftiridina
Obtenção	Sintética
Cl ₅₀	14,12 μmol/L
Contra	<i>L. infantum</i> topoisomerase 1B
Fonte	TEJERA et al., 2016
Cl ₅₀	Nenhuma inibição
Contra	Humana topoisomerase 1B
Fonte	TEJERA et al., 2016

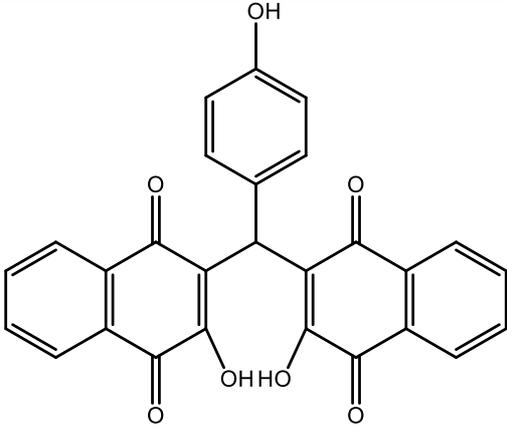
Estrutura:	
Identificação	Molécula 11.1
Nome	6-(4-nitrofenil)-7H-indeno[2,1-c][1,5]naftiridina
Obtenção	Sintética
Cl ₅₀	42,32 µmol/L
Contra	<i>L. infantum</i> topoisomerase 1B
Fonte	TEJERA et al., 2016
Cl ₅₀	31,56 µmol/L
Contra	Humana topoisomerase 1B
Fonte	TEJERA et al., 2016

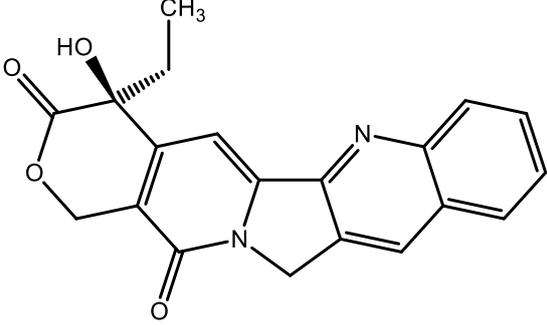
Estrutura:	
Identificação	Molécula 12.1
Nome	6-(naftaleno-2-il)-7H-indeno[2,1-c][1,5]naftiridina
Obtenção	Sintética
Cl ₅₀	28,14 μmol/L
Contra	<i>L. infantum</i> topoisomerase 1B
Fonte	TEJERA et al., 2016
Cl ₅₀	83,39 μmol/L
Contra	Humana topoisomerase 1B
Fonte	TEJERA et al., 2016

Estrutura:	
Identificação	Molécula 13.1
Nome	3,3'-(phenilmetileno)bis(2-hidroxinaftaleno-1,4-diona)
Obtenção	Sintética
Cl ₅₀	51,01 µmol/L
Contra	<i>L. donovani</i> topoisomerase 1B
Fonte	SHARMA et al., 2013

Estrutura:	
Identificação	Molécula 14.1
Nome	3,3'-((4-(dimetilamina)fenil)metileno)bis(2-hidroxinaftaleno-1,4-diona)
Obtenção	Sintética
Cl ₅₀	37,50 μmol/L
Contra	<i>L. donovani</i> topoisomerase 1B
Fonte	SHARMA et al., 2013

Estrutura:	
Identificação	Molécula 15.1
Nome	3,3'-((4-hidroxi-3-metoxifenil)metileno)bis(2-hidroxinaftaleno-1,4-diona)
Obtenção	Sintética
Cl ₅₀	74,00 µmol/L
Contra	<i>L. donovani</i> topoisomerase 1B
Fonte	SHARMA et al., 2013

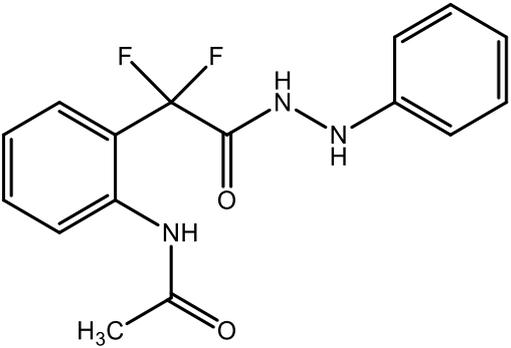
Estrutura:	
Identificação	Molécula 16.1
Nome	3,3'-((4-hidroxifenil)metileno)bis(2-hidroxinaftaleno-1,4-diona)
Obtenção	Sintética
Cl ₅₀	70,00 µmol/L
Contra	<i>L. donovani</i> topoisomerase 1B
Fonte	SHARMA et al., 2013

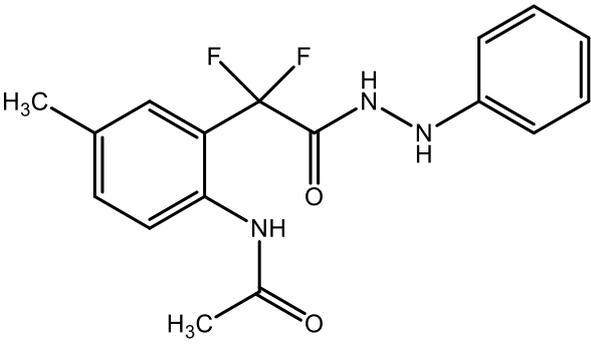
Estrutura:	
Identificação	Molécula 17.1
Nome	Camptotecina
Obtenção	Sintética
Cl ₅₀	4,19 µmol/L
Contra	<i>L. donovani</i> topoisomerase 1B
Fonte	SHARMA et al., 2013

Fonte: Autor, 2021.

ANEXO B

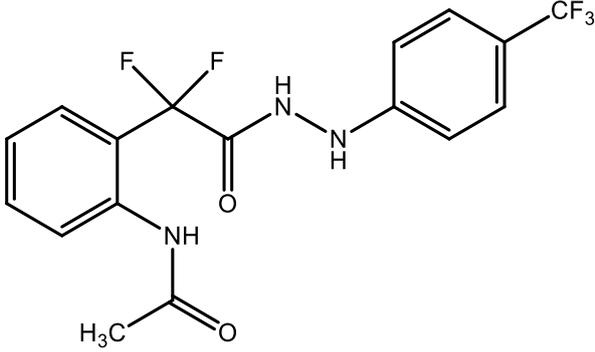
Tabela B. Docking de inibidores arginase *L. amazonensis*.

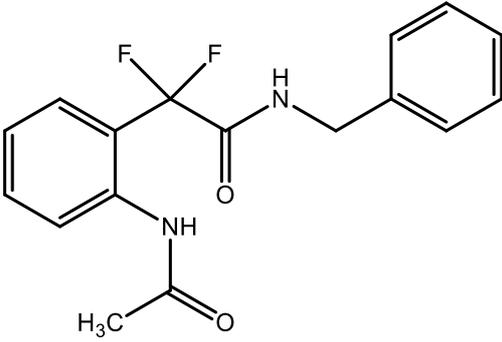
Estrutura:	
Identificação	Molécula 1.2
Nome	N-(2-(1,1-difluoro-2-oxo-2-(2-fenilhidrazinil)etil)fenil)acetamida
Obtenção	Sintética
Cl ₅₀	11,99 µmol/L
Fonte	LIMA et al., 2019

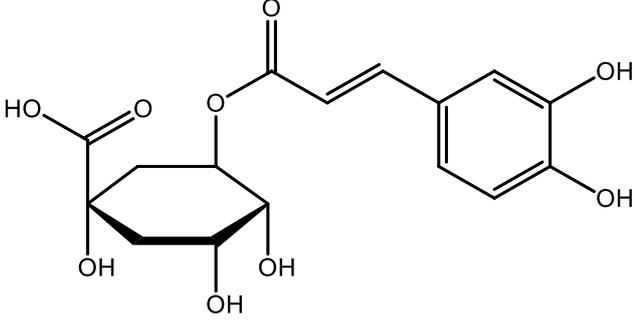
Estrutura:	
Identificação	Molécula 2.2
Nome	N-(2-(1,1-difluoro-2-oxo-2-(2-fenilhidrazinil)etil)-4-metilfenil)acetamida
Obtenção	Sintética
Cl ₅₀	12,00 µmol/L
Fonte	LIMA et al., 2019

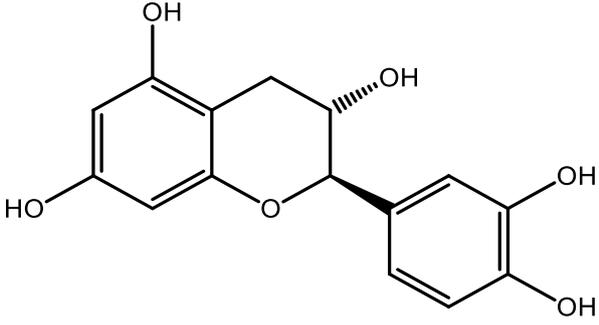
Estrutura:	
Identificação	Molécula 3.2
Nome	N-(2-(1,1-difluoro-2-oxo-2-(2-(piridina-2-il)hidrazinil)etil)fenil)acetamida
Obtenção	Sintética
Cl ₅₀	100,00 µmol/L
Fonte	LIMA et al., 2019

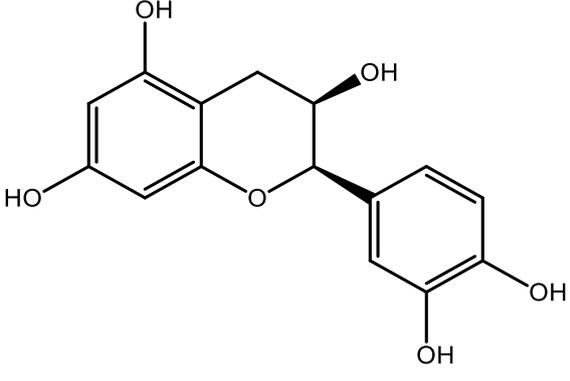
Estrutura:	
Identificação	Molécula 4.2
Nome	N-(2-(1,1-difluoro-2-oxo-2-(2-(piridina-2-il)hidrazinil)etil)-4-metilfenil)acetamida
Obtenção	Sintética
Cl ₅₀	99,99 µmol/L
Fonte	LIMA et al., 2019

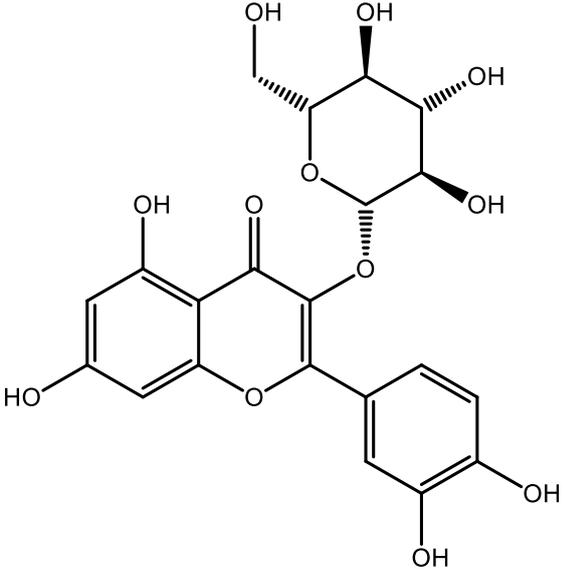
Estrutura:	
Identificação	Molécula 5.2
Nome	N-(2-(1,1-difluoro-2-oxo-2-(2-(4-(trifluorometil)fenil)hidrazinil)etil)fenil)acetamida
Obtenção	Sintética
Cl ₅₀	31,99 µmol/L
Fonte	LIMA et al., 2019

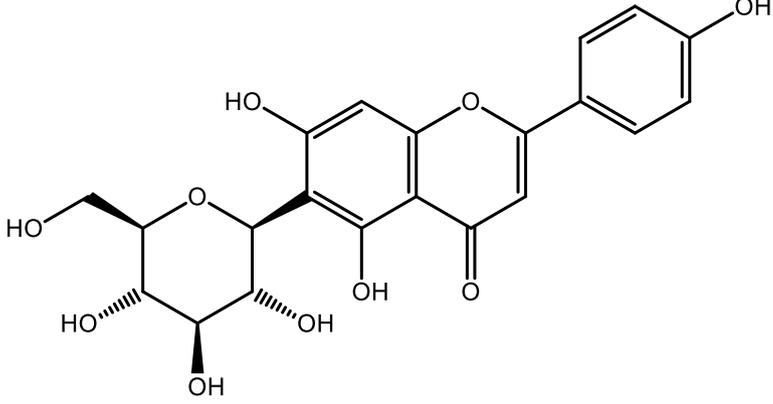
Estrutura:	
Identificação	Molécula 6.2
Nome	2-(2-acetamidafenil)-N-benzil-2,2-difluoroacetamida
Obtenção	Sintética
Cl ₅₀	37,01 µmol/L
Fonte	LIMA et al., 2019

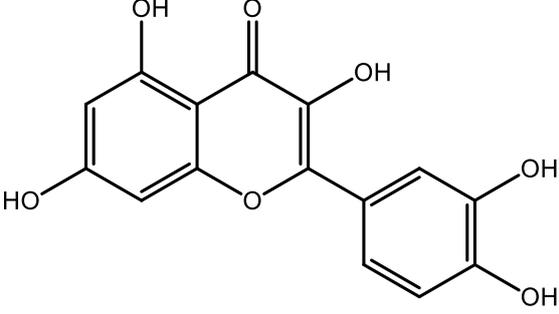
Estrutura:	
Identificação	Molécula 7.2
Nome	Ácido clorogênico
Obtenção	Natural
Cl ₅₀	67,00 µmol/L
Fonte	CRUZ et al., 2013.
Cl ₅₀	8,30 µmol/L
Fonte	DA SILVA et al., 2018

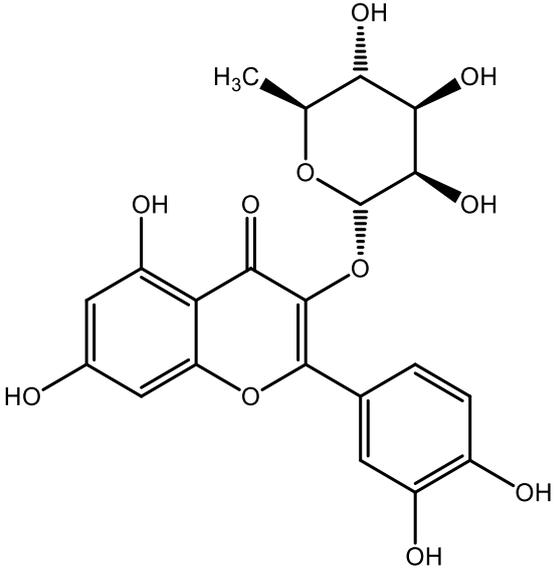
Estrutura:	
Identificação	Molécula 8.2
Nome	(+) – catequina
Obtenção	Natural
Cl ₅₀	66,01 µmol/L
Fonte	CRUZ et al., 2013
Cl ₅₀	1,69 µmol/L
Fonte	DE SOUSA et al., 2014
Cl ₅₀	0,76 µmol/L
Fonte	DOS REIS et al., 2013

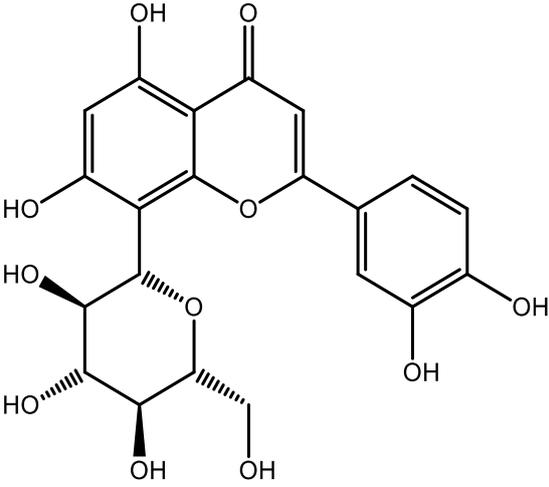
Estrutura:	
Identificação	Molécula 9.2
Nome	(-) – epicatequina
Obtenção	Natural
Cl ₅₀	62,01 µmol/L
Fonte	CRUZ et al., 2013
Cl ₅₀	1,58 µmol/L
Fonte	DE SOUSA et al., 2014
Cl ₅₀	1,79 µmol/L
Fonte	DOS REIS et al., 2013

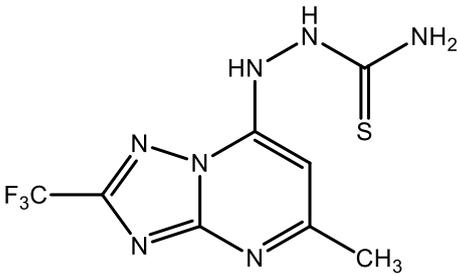
Estrutura:	
Identificação	Molécula 10.2
Nome	Isoquercitrina
Obtenção	Natural
Cl ₅₀	53,77 µmol/L
Fonte	CRUZ et al., 2013
Cl ₅₀	3,79 µmol/L
Fonte	DA SILVA et al., 2012
Cl ₅₀	2,00 µmol/L
Fonte	DE SOUSA et al., 2014

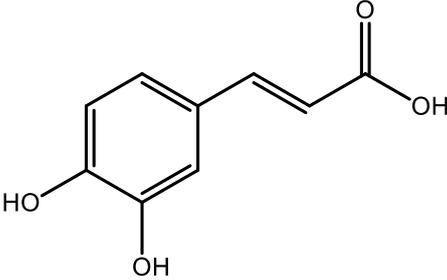
Estrutura:	
Identificação	Molécula 11.2
Nome	Isovitexina
Obtenção	Natural
Cl ₅₀	13,99 µmol/L
Fonte	CRUZ et al., 2013.

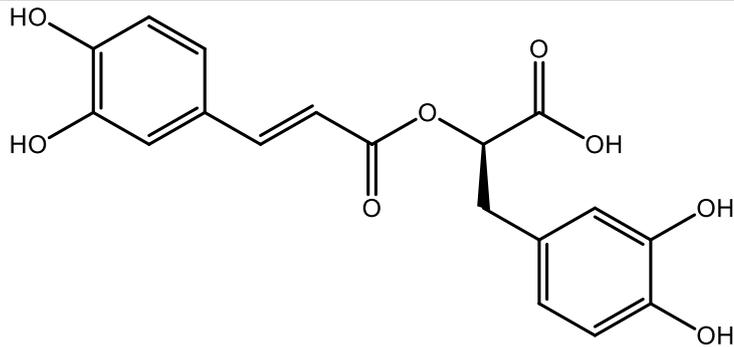
Estrutura:	
Identificação	Molécula 12.2
Nome	Quercetina
Obtenção	Natural
Cl ₅₀	4,30 µmol/L
Fonte	DA SILVA et al., 2012
Cl ₅₀	4,00 µmol/L
Fonte	DE SOUSA et al., 2014

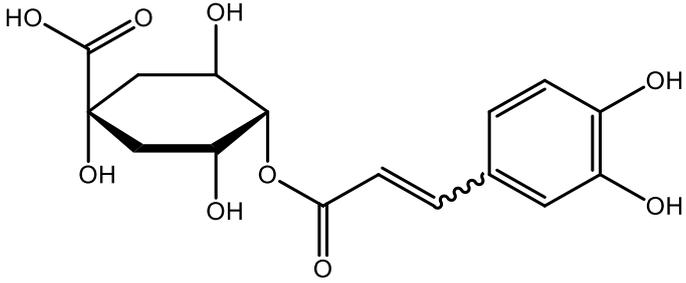
Estrutura:	
Identificação	Molécula 13.2
Nome	Quercitrina
Obtenção	Natural
Cl ₅₀	9,99 µmol/L
Fonte	DA SILVA et al., 2012
Cl ₅₀	9,99 µmol/L
Fonte	DA SILVA et al., 2019
Cl ₅₀	12,20 µmol/L
Fonte	DE SOUSA et al., 2014

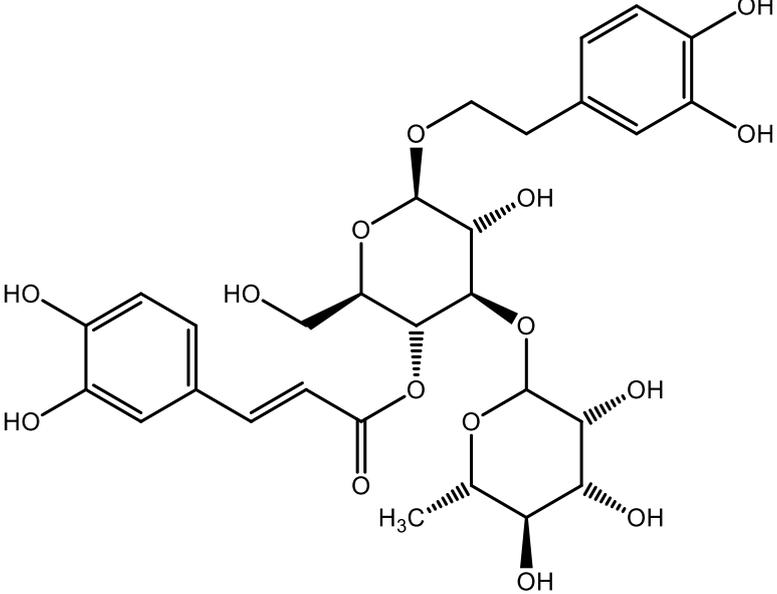
Estrutura:	
Identificação	Molécula 14.2
Nome	Orientina
Obtenção	Natural
Cl ₅₀	15,99 µmol/L
Fonte	DA SILVA et al., 2015
Cl ₅₀	15,99 µmol/L
Fonte	MANJOLIN et al., 2013

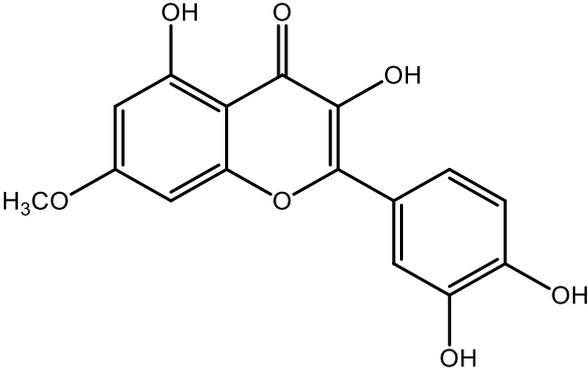
Estrutura:	
Identificação	Molécula 15.2
Nome	2-(5-metil-2-(trifluorometil)-[1,2,4]triazol[1,5-a]pirimidina-7-il)hidrazinacarbotoamida
Obtenção	Sintética
Cl ₅₀	16,51 µmol/L
Fonte	DA SILVA et al., 2015

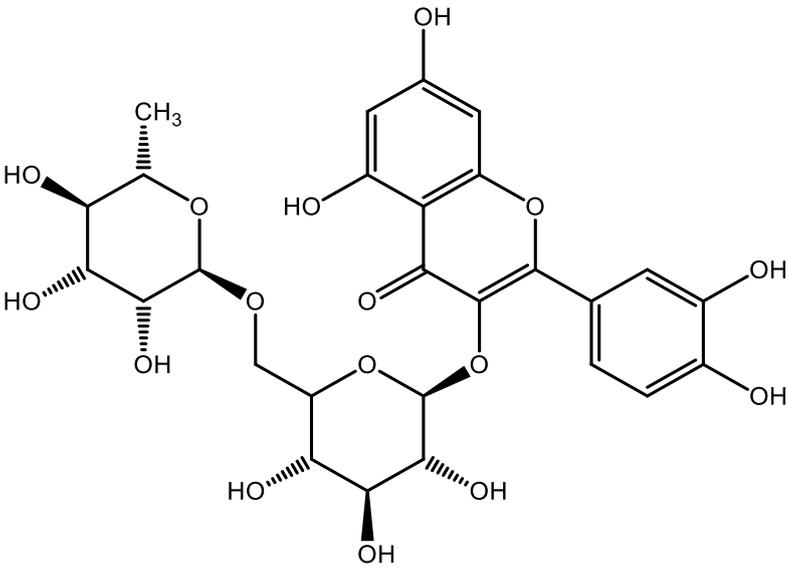
Estrutura:	
Identificação	Molécula 16.2
Nome	Ácido cafeico
Obtenção	Natural
Cl ₅₀	1,50 µmol/L
Fonte	DA SILVA et al., 2018

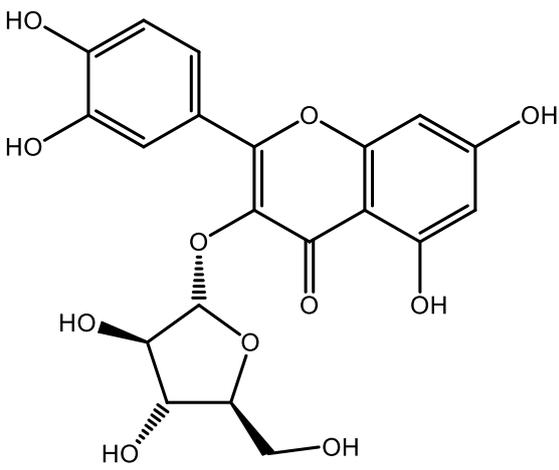
Estrutura:	
Identificação	Molécula 17.2
Nome	Ácido rosmarínico
Obtenção	Natural
Cl ₅₀	2,11 µmol/L
Fonte	DA SILVA et al., 2018

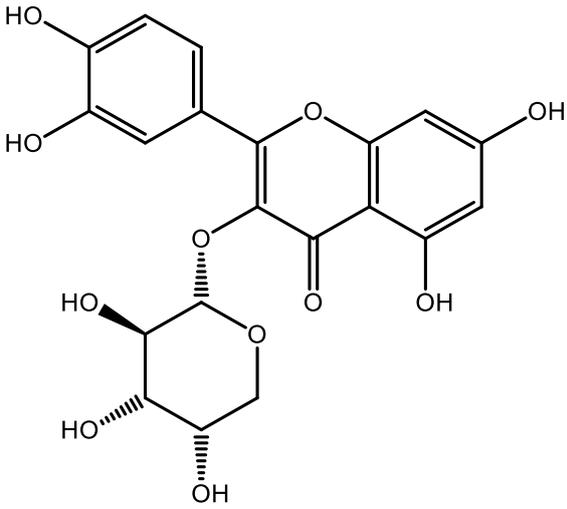
Estrutura:	
Identificação	Molécula 18.2
Nome	Ácido cripto-clorogênico
Obtenção	Natural
Cl ₅₀	11,01 µmol/L
Fonte	DA SILVA et al., 2018

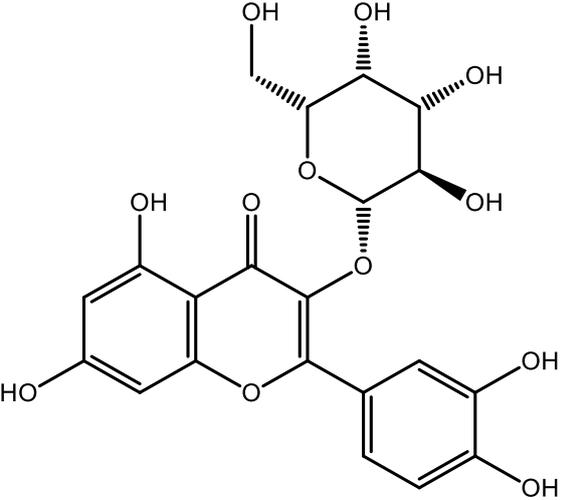
Estrutura:	
Identificação	Molécula 19.2
Nome	Ácido Isoverbascosido
Obtenção	Natural
Cl ₅₀	2,31 µmol/L
Fonte	DA SILVA et al., 2018

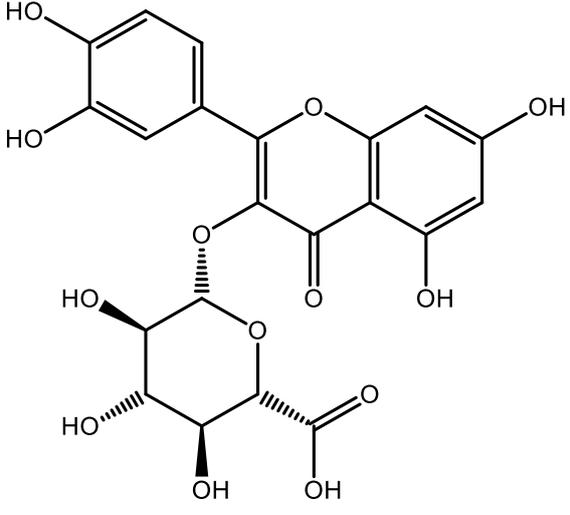
Estrutura:	
Identificação	Molécula 20.2
Nome	Ramnetina
Obtenção	Natural
Cl ₅₀	5,50 µmol/L
Fonte	DA SILVA et al., 2019

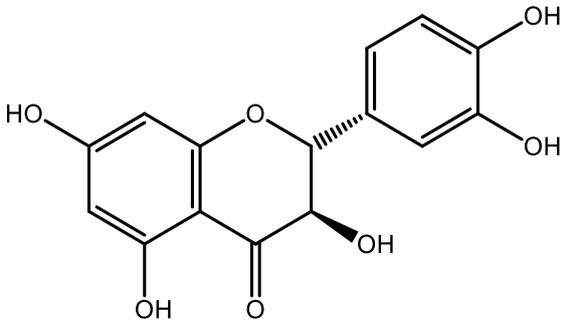
Estrutura:	
Identificação	Molécula 21.2
Nome	Rutina
Obtenção	Natural
Cl ₅₀	10,40 µmol/L
Fonte	DA SILVA et al., 2019

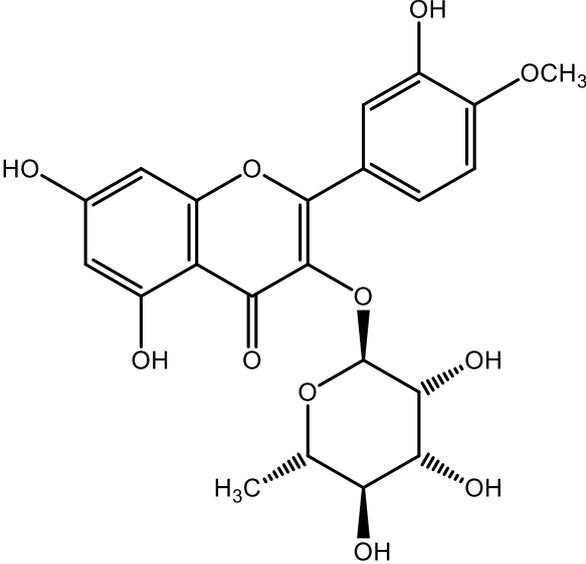
Estrutura:	
Identificação	Molécula 22.2
Nome	Avicularia
Obtenção	Natural
Cl ₅₀	5,59 µmol/L
Fonte	DA SILVA et al., 2019

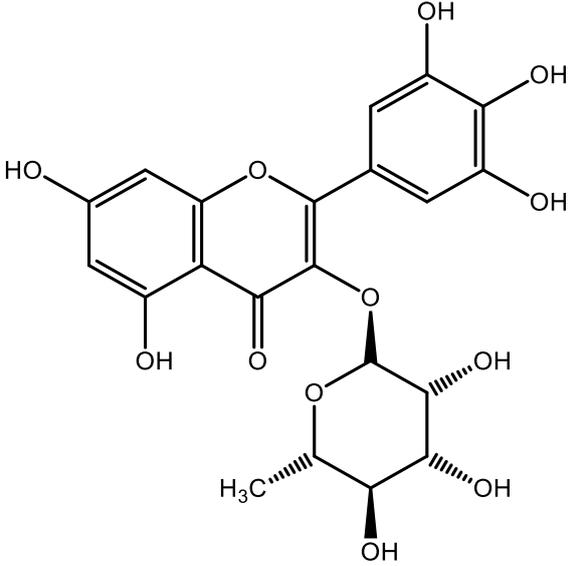
Estrutura:	 <p>The image displays the chemical structure of Guajaverina (Echinoclorogenic acid). It consists of a central pyrone ring (a six-membered ring with one oxygen atom and a carbonyl group). This central ring is substituted with two catechol groups (1,2-dihydroxybenzene rings) and a glucose moiety. The glucose moiety is attached to the pyrone ring via an ester linkage and is shown in its cyclic form with three hydroxyl groups explicitly drawn with stereochemistry: one on a wedge, one on a dash, and one pointing down.</p>
Identificação	Molécula 23.2
Nome	Guajaverina
Obtenção	Natural
Cl ₅₀	6,91 µmol/L
Fonte	DA SILVA et al., 2019

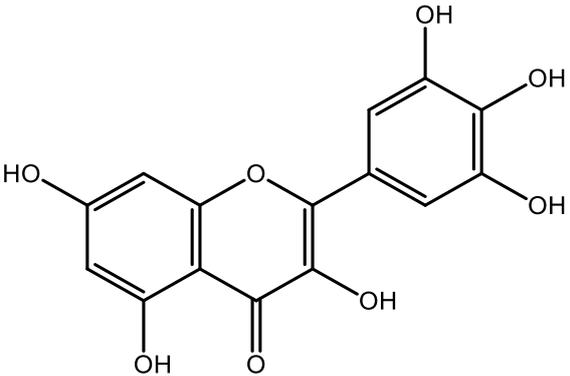
Estrutura:	 <p>The image shows the chemical structure of Hiperosídeo, a flavonoid glycoside. It consists of a central flavone core (6,7-dihydroflavone) with a hydroxyl group at position 5 and a hydroxyl group at position 7. The flavone core is linked via an ether bridge at position 2 to a glucose molecule. The glucose molecule is in its cyclic form, with hydroxyl groups at positions 2, 3, and 4. The hydroxyl group at position 2 is linked to the oxygen atom of the ether bridge. The hydroxyl groups at positions 3 and 4 are shown with dashed bonds, indicating they are in the alpha position. The hydroxyl group at position 6 is shown with a solid wedge bond, indicating it is in the beta position. The hydroxyl group at position 7 is shown with a solid wedge bond, indicating it is in the beta position.</p>
Identificação	Molécula 24.2
Nome	Hiperosídeo
Obtenção	Natural
Cl ₅₀	5,10 µmol/L
Fonte	DA SILVA et al., 2019

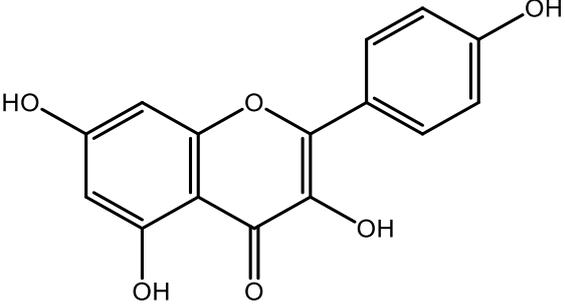
Estrutura:	
Identificação	Molécula 25.2
Nome	Quercetina-3-O-glicuronídeo
Obtenção	Natural
Cl ₅₀	8,19 µmol/L
Fonte	DA SILVA et al., 2019

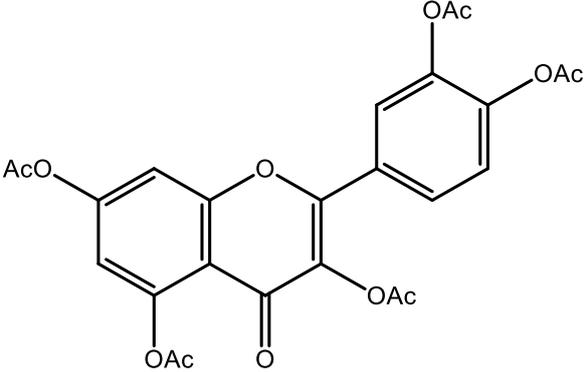
Estrutura:	
Identificação	Molécula 26.2
Nome	Taxifolina
Obtenção	Natural
Cl ₅₀	1,61 µmol/L
Fonte	DA SILVA et al., 2019

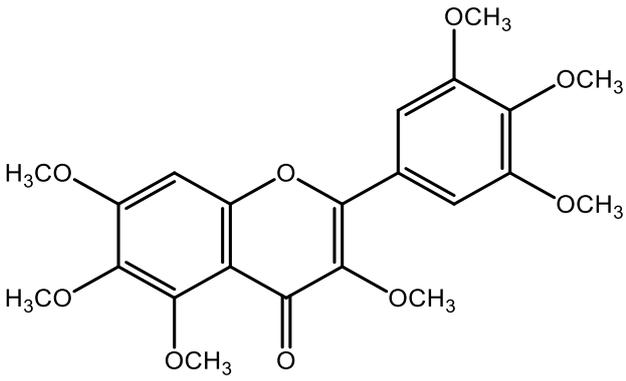
Estrutura:	
Identificação	Molécula 27.2
Nome	Mearnssetina
Obtenção	Natural
Cl ₅₀	88,10 μmol/L
Fonte	DE SOUSA et al., 2014

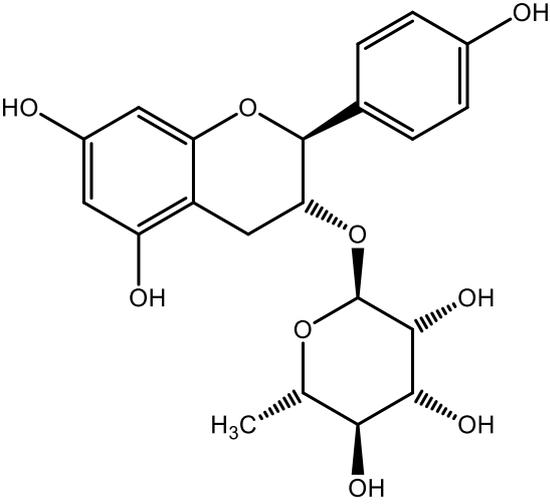
Estrutura:	
Identificação	Molécula 28.2
Nome	Miricetina-3-O- α -rhamnosideo
Obtenção	Natural
Cl ₅₀	2,39 μ mol/L
Fonte	DE SOUSA et al., 2014

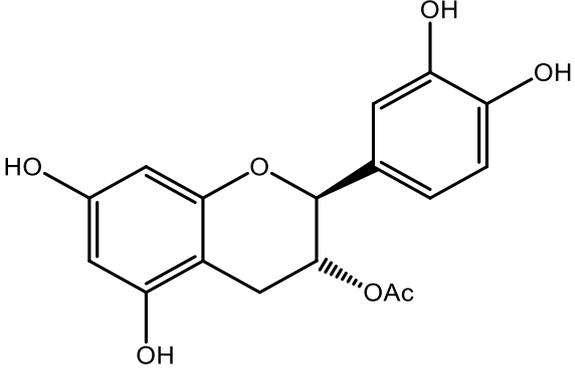
Estrutura:	
Identificação	Molécula 29.2
Nome	Miricetina
Obtenção	Natural
Cl ₅₀	0,67 μ mol/L
Fonte	DE SOUSA et al., 2014

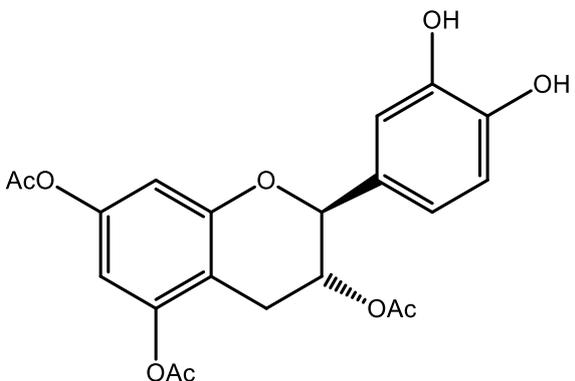
Estrutura:	 <p>The image shows the chemical structure of Caempferol, a flavonoid. It consists of a central chromone ring system. The A-ring (left) has hydroxyl groups at positions 5 and 7. The C-ring (right) has a hydroxyl group at position 3 and a 4-hydroxyphenyl group at position 2. The B-ring (right) is a 4-hydroxyphenyl group.</p>
Identificação	Molécula 30.2
Nome	Caempferol
Obtenção	Natural
Cl ₅₀	54,99 µmol/L
Fonte	MANJOLIN et al., 2013.

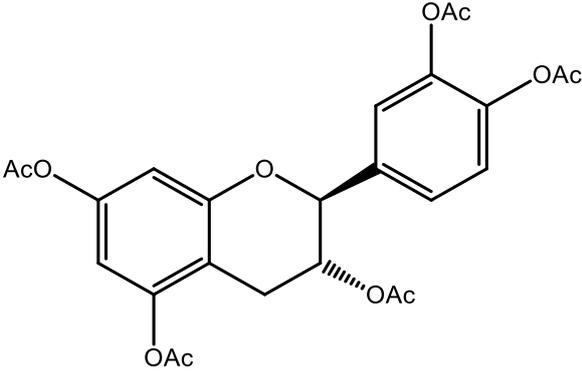
Estrutura:	 <p>The image shows the chemical structure of Quercetina pentacetato (Quercetin pentaacetate). It is a flavonoid where all five hydroxyl groups of the parent quercetin are acetylated. The A-ring (left) has acetoxy groups at positions 5 and 7. The C-ring (right) has an acetoxy group at position 3 and a 3,4-diacetoxyphenyl group at position 2. The B-ring (right) is a 3,4-diacetoxyphenyl group.</p>
Identificação	Molécula 31.2
Nome	Quercetina pentacetato
Obtenção	Natural
Cl ₅₀	120,21 µmol/L
Fonte	DE SOUSA et al., 2014

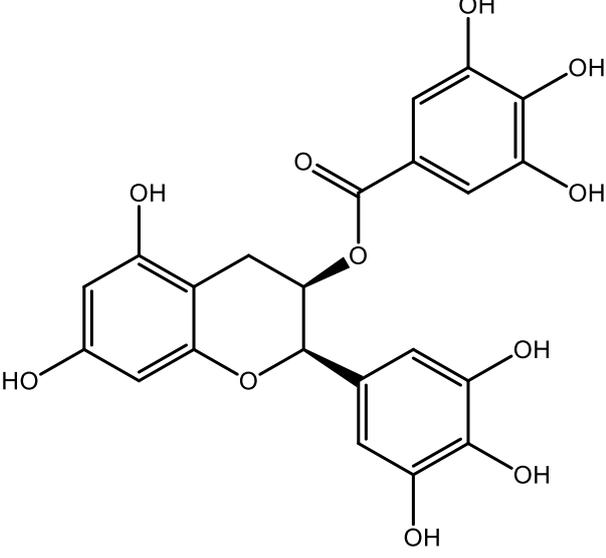
Estrutura:	
Identificação	Molécula 32.2
Nome	3,4,6,7,3',4',5'-heptametoxiflavona
Obtenção	Natural
Cl ₅₀	127,91 µmol/L
Fonte	DE SOUSA et al., 2014

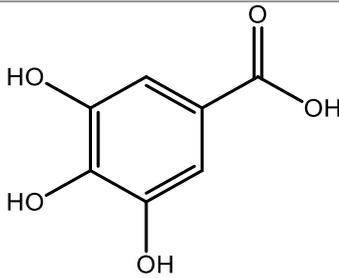
Estrutura:	
Identificação	Molécula 33.2
Nome	Catequina-3-O-α-rhamnopyranosideo
Obtenção	Natural
Cl ₅₀	35,08 µmol/L
Fonte	DE SOUSA et al., 2014

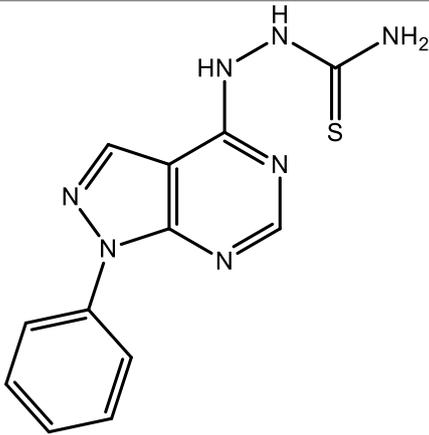
Estrutura:	
Identificação	Molécula 34.2
Nome	3-acetilcatequina
Obtenção	Natural
Cl ₅₀	3,70 µmol/L
Fonte	DE SOUSA et al., 2014

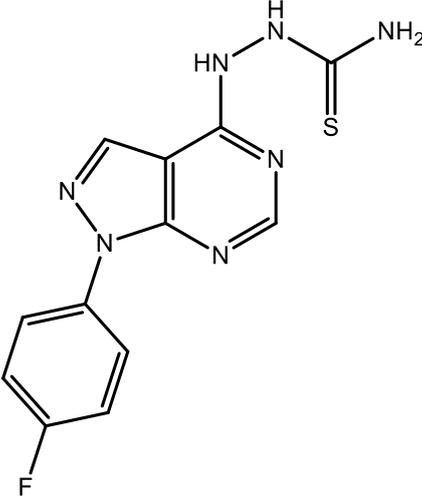
Estrutura:	
Identificação	Molécula 35.2
Nome	3,5,7-Triacetilcatequina
Obtenção	Natural
Cl ₅₀	0,89 µmol/L
Fonte	DE SOUSA et al., 2014

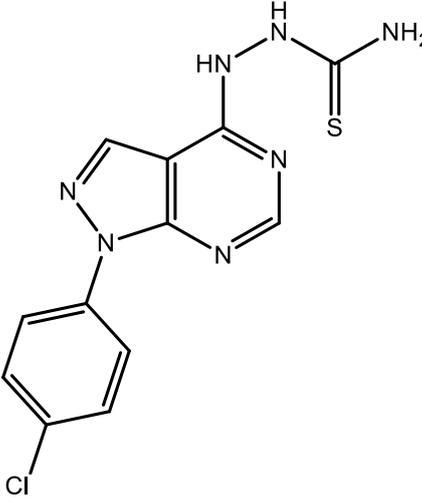
Estrutura:	
Identificação	Molécula 36.2
Nome	Pentacetilcatequina
Obtenção	Natural
Cl ₅₀	4,80 µmol/L
Fonte	DE SOUSA et al., 2014

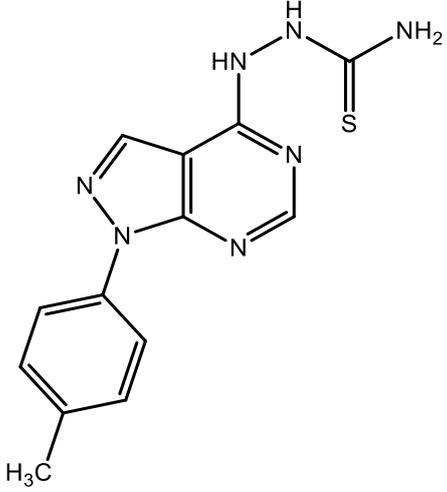
Estrutura:	
Identificação	Molécula 37.2
Nome	(-)-Epigalocatequina-3-galato
Obtenção	Natural
Cl ₅₀	3,80 µmol/L
Fonte	DOS REIS et al., 2013

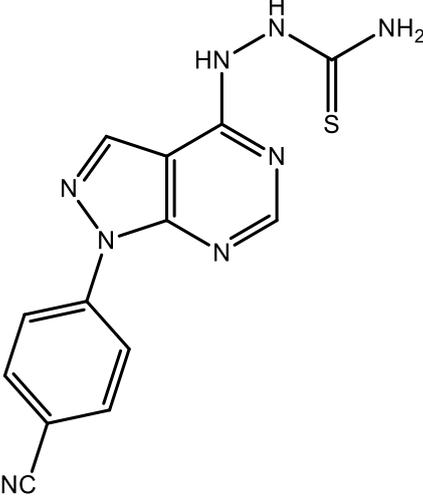
Estrutura:	
Identificação	Molécula 38.2
Nome	Ácido gálico
Obtenção	Natural
Cl ₅₀	2,17 µmol/L
Fonte	DOS REIS et al., 2013

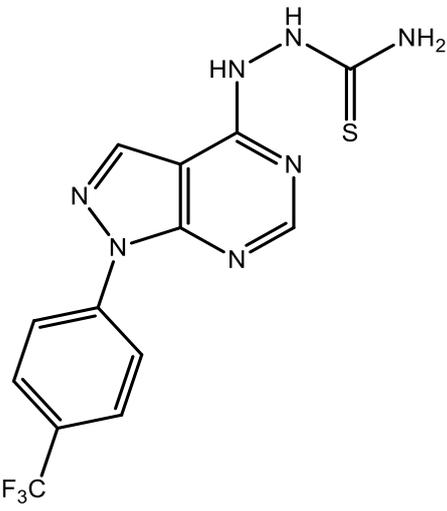
Estrutura:	
Identificação	Molécula 39.2
Nome	2-(1-fenil-1H-pirazol[3,4-d]pirimidina-4-il)hidrazinacarbotoamida
Obtenção	Sintética
Cl ₅₀	11,99 µmol/L
Fonte	FEITOSA et al., 2019

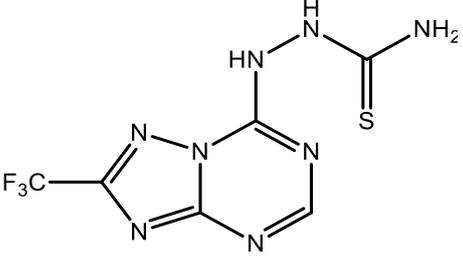
Estrutura:	
Identificação	Molécula 40.2
Nome	2-(1-(4-fluorofenil)-1H-pirazol[3,4-d]pirimidina-4-il)hidrazinacarbotoamida
Obtenção	Sintética
Cl ₅₀	99,99 µmol/L
Fonte	FEITOSA et al., 2019

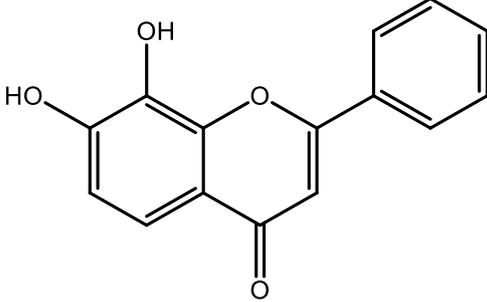
Estrutura:	
Identificação	Molécula 41.2
Nome	2-(1-(4-chlorofenil)-1H-pirazol[3,4-d]pirimidina-4-il)hidrazinacarbotoamida
Obtenção	Sintético
Cl ₅₀	100,01 µmol/L
Fonte	FEITOSA et al., 2019

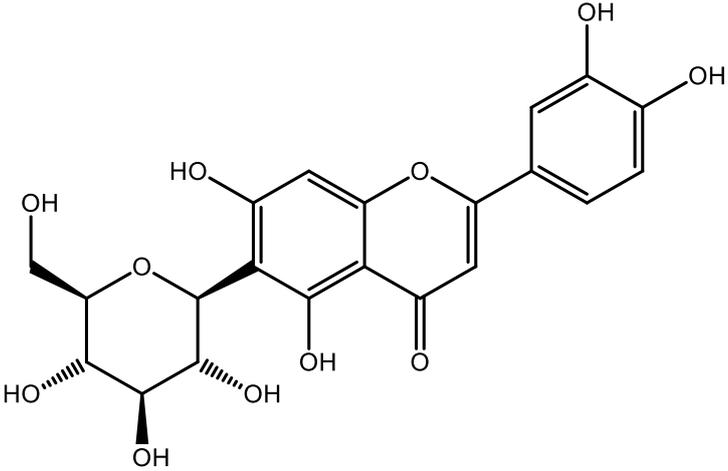
Estrutura:	
Identificação	Molécula 42.2
Nome	2-(1-(p-tolil)-1H-pirazol[3,4-d]pirimidina-4-yl)hidrazinacarbotoamida
Obtenção	Sintético
Cl ₅₀	100,02 µmol/L
Fonte	FEITOSA et al., 2019

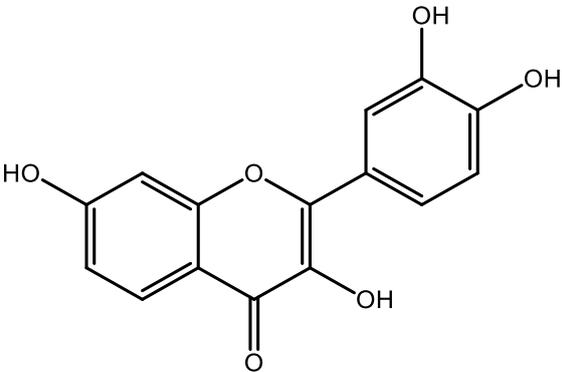
Estrutura:	
Identificação	Molécula 43.2
Nome	2-(1-(4-cianofenil)-1H-pirazol[3,4-d]pirimidina-4-yl)hidrazinacarbotoamida
Obtenção	Sintética
Cl ₅₀	99,99 µmol/L
Fonte	FEITOSA et al., 2019

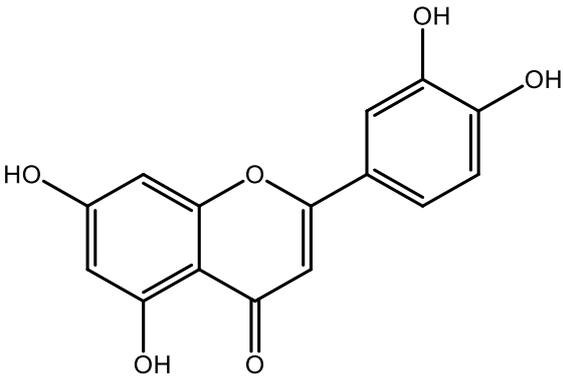
Estrutura:	
Identificação	Molécula 44.2
Nome	2-(1-(4-(trifluorometil)fenil)-1H-pirazol[3,4-d]pirimidina-4-yl)hidrazinacarbotoamida
Obtenção	Sintético
Cl ₅₀	47,01 µmol/L
Fonte	FEITOSA et al., 2019

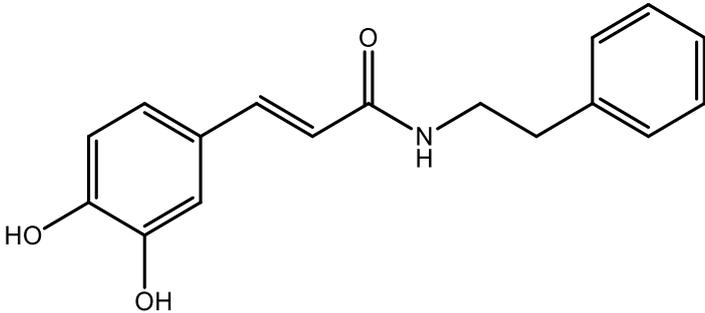
Estrutura:	
Identificação	Molécula 45.2
Nome	2-(2-(trifluorometil)-[1,2,4]triazol[1,5-a][1,3,5]triazina-7-il)hidrazinacarbotoamida
Obtenção	Sintética
Cl ₅₀	16,50 µmol/L
Fonte	FEITOSA et al., 2019

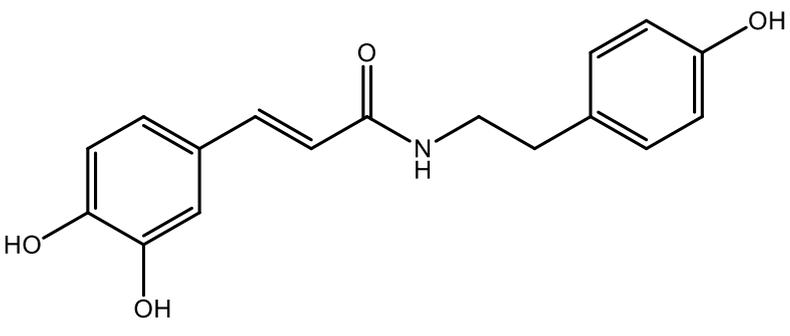
Estrutura:	
Identificação	Molécula 46.2
Nome	7,8-Dihidroxi flavona
Obtenção	Natural
Cl ₅₀	12,00 µmol/L
Fonte	MANJOLIN et al., 2013

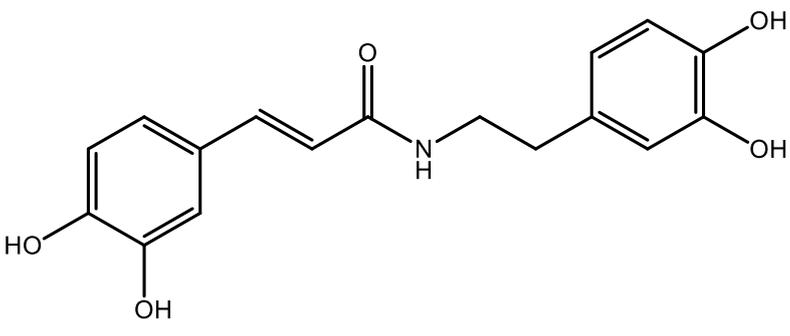
Estrutura:	 <p>The structure shows a central coumarin core. At the 3-position, there is a 2,4,6-trihydroxyphenyl group. At the 4-position, there is a 2,3,4,6-tetrahydroxyphenyl group. At the 7-position, there is a hydroxyl group. The coumarin ring has a carbonyl group at the 2-position and a methoxy group at the 5-position.</p>
Identificação	Molécula 47.2
Nome	Isoorientina
Obtenção	Natural
Cl ₅₀	9,01 µmol/L
Fonte	MANJOLIN et al., 2013

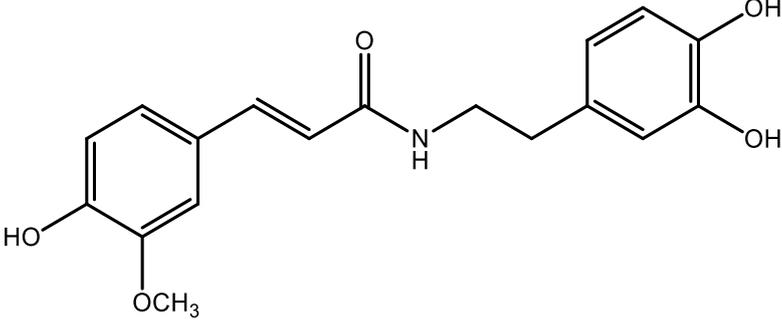
Estrutura:	 <p>The structure shows a central coumarin core. At the 3-position, there is a 2,4,6-trihydroxyphenyl group. At the 4-position, there is a hydroxyl group. At the 7-position, there is a hydroxyl group. The coumarin ring has a carbonyl group at the 2-position and a methoxy group at the 5-position.</p>
Identificação	Molécula 48.2
Nome	Fisetina
Obtenção	Natural
Cl ₅₀	1,40 µmol/L
Fonte	MANJOLIN et al., 2013

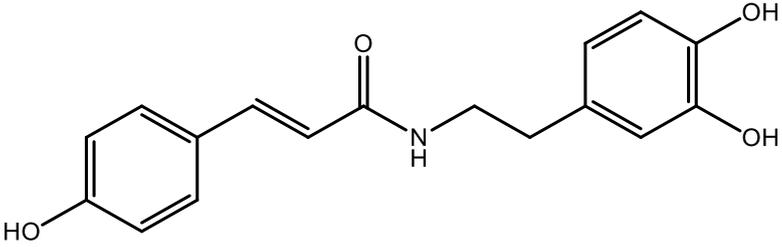
Estrutura:	 <p>The image shows the chemical structure of Luteolin, a flavone. It consists of a central chromone ring system (a benzene ring fused to a pyrone ring). The 5-position of the chromone ring has a hydroxyl group (-OH). The 7-position has a 3,4-dihydroxyphenyl group (-C₆H₃(OH)₂), which is a benzene ring with hydroxyl groups at the 3 and 4 positions.</p>
Identificação	Molécula 49.2
Nome	Luteolina
Obtenção	Natural
Cl ₅₀	8,49 µmol/L
Fonte	MANJOLIN et al., 2013

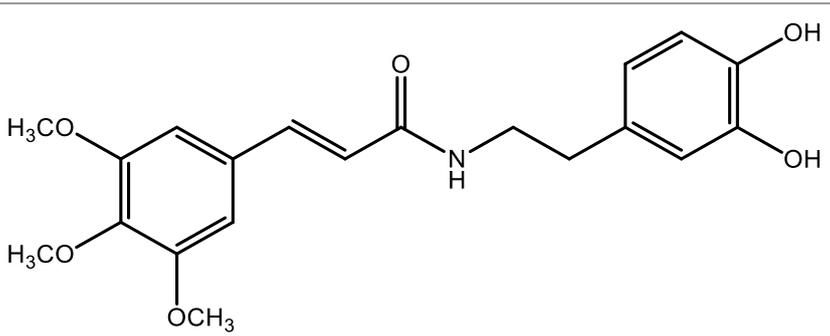
Estrutura:	 <p>The image shows the chemical structure of (E)-3-(3,4-dihydroxyphenyl)-N-phenylethanamide. It features a central trans-alkene (E configuration). One end of the alkene is attached to a 3,4-dihydroxyphenyl group (a benzene ring with hydroxyl groups at the 3 and 4 positions). The other end is attached to an amide group (-C(=O)NH-), which is further connected to an ethyl chain (-CH₂-CH₂-) that terminates in a phenyl ring.</p>
Identificação	Molécula 50.2
Nome	(E)-3-(3,4-dihidroxi-fenil)-N-fenetilacrilamida
Obtenção	Sintético
Cl ₅₀	6,88 µmol/L
Fonte	COME, 2019

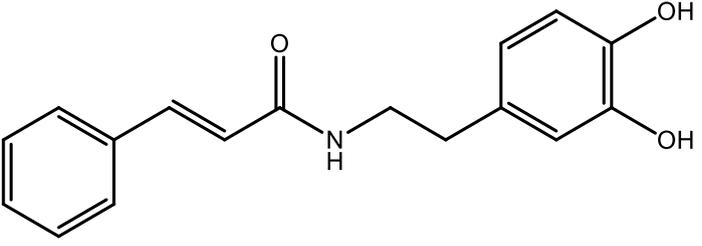
Estrutura:	
Identificação	Molécula 51.2
Nome	(E)-3-(3,4-dihydroxyfenil)-N-(4-hidroxiifenil)acrilamida
Obtenção	Sintético
Cl ₅₀	5,61 µmol/L
Fonte	COME, 2019

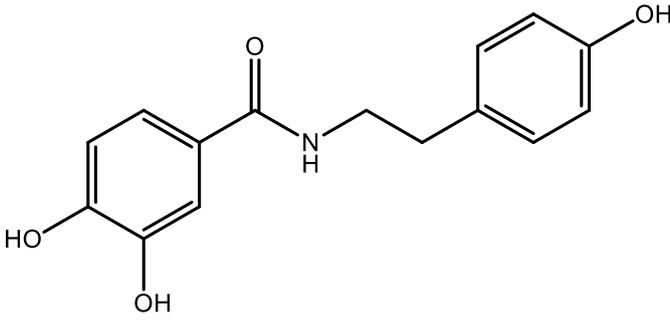
Estrutura:	
Identificação	Molécula 52.2
Nome	(E)-N-(3,4-dihidroxiifenil)-3-(3,4-dihidroxiifenil)acrilamida
Obtenção	Sintético
Cl ₅₀	1,81 µmol/L
Fonte	COME, 2019

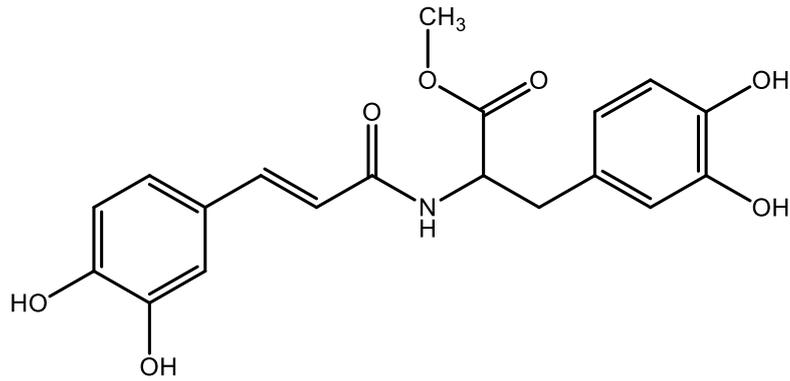
Estrutura:	
Identificação	Molécula 53.2
Nome	(E)-N-(3,4-dihidroxi-fenil)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)acrilamida
Obtenção	Sintético
Cl ₅₀	6,56 µmol/L
Fonte	COME, 2019

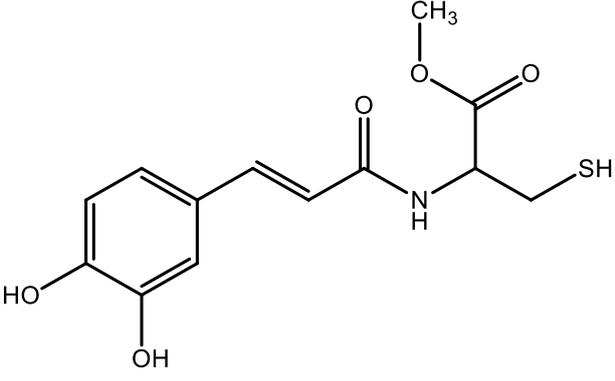
Estrutura:	
Identificação	Molécula 54.2
Nome	(E)-N-(3,4-dihidroxi-fenil)-3-(4-hidroxi-fenil)acrilamida
Obtenção	Sintética
Cl ₅₀	2,51 µmol/L
Fonte	COME, 2019

Estrutura:	
Identificação	Molécula 55.2
Nome	(E)-N-(3,4-dihidroxiifenetil)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)acrilamida
Obtenção	Sintético
Cl ₅₀	2,41 µmol/L
Fonte	COME, 2019

Estrutura:	
Identificação	Molécula 56.2
Nome	N-(3,4-dihidroxiifenetil)cinamamida
Obtenção	Sintética
Cl ₅₀	1,31 µmol/L
Fonte	COME, 2019

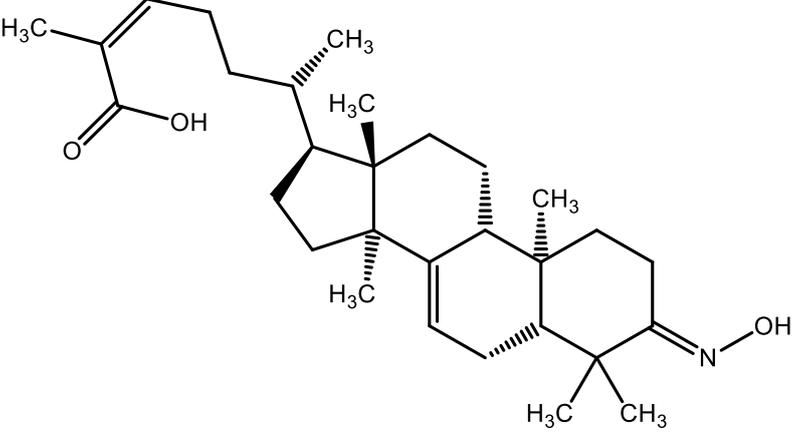
Estrutura:	
Identificação	Molécula 57.2
Nome	3,4-dihidroxi-N-(4-hidroxifenetil)benzamida
Obtenção	Sintética
Cl ₅₀	17,78 µmol/L
Fonte	COME, 2019

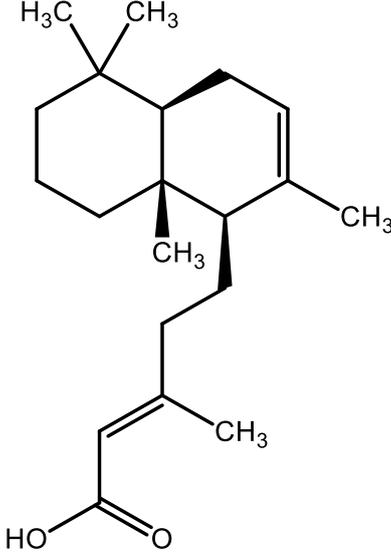
Estrutura:	
Identificação	Molécula 58.2
Nome	(E)-metil 3-(3,4-dihidroxifenil)-2-(3-(3,4-dihidroxifenil)acrilamida)propanoato
Obtenção	Sintético
Cl ₅₀	4,21 µmol/L
Fonte	COME, 2019

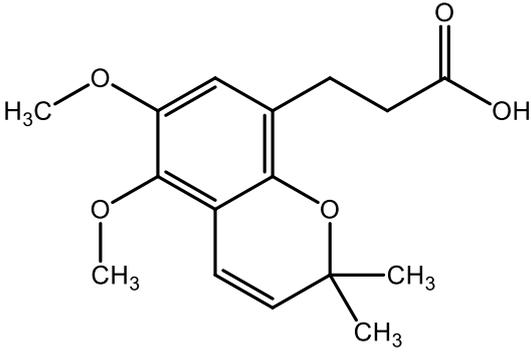
Estrutura:	
Identificação	Molécula 59.2
Nome	(E)-metil 2-(3-(3,4-dihidroxiifenil)acrilamida)-3-mercaptopropanoato
Obtenção	Sintética
Cl ₅₀	9,32 µmol/L
Fonte	COME, 2019

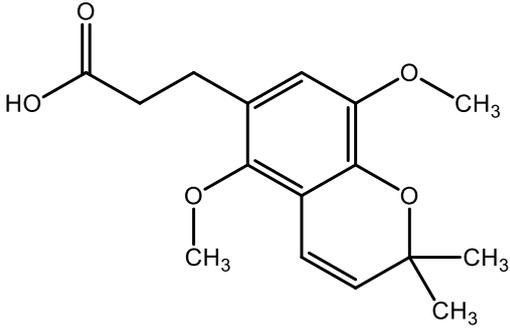
Fonte: Autor, 2021.

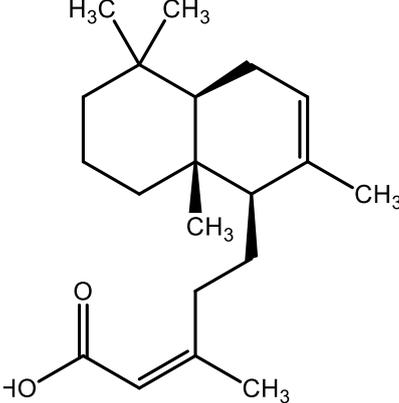
Tabela C. Moléculas promissoras do banco NuBBE.

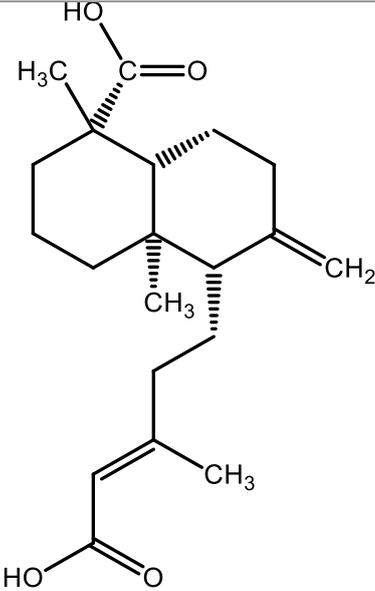
Estrutura:	
Nome:	Ácido (13 α ,14 β ,17 α ,20S,24Z)-3-(hidroxiimino)-lanosta-7,24-dien-26-óico
ID NuBBE:	1043
Ativ. leish.:	não há na literatura
Alvo:	-
Fonte:	-
Afin. Leish.:	-14,62 kcal/mol
Ki leish.:	19,15 pM
Afin. Human.:	Arg 1: -12,37 kcal/mol; Arg 2: -13,30 kcal/mol
Ki hum.:	Arg 1: 857,65 pM; Arg 2: 179,57 pM

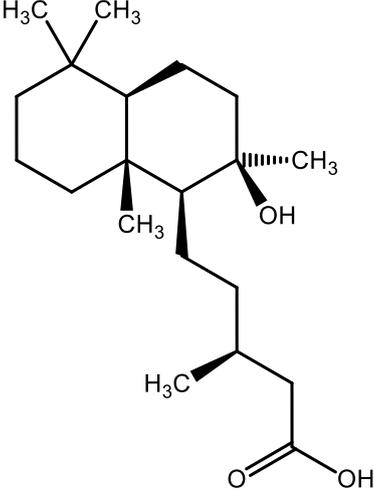
Estrutura:	
Nome:	Ácido eperua-7,13-dien-15-óico
ID NuBBE:	2391b
Ativ. leish.:	não há na literatura
Alvo:	-
Fonte:	-
Afin. Leish.:	-13,98 kcal/mol
Ki leish.:	56,82 pM
Afin. Human.:	Arg 1: -11,89 kcal/mol; Arg 2: -12,17 kcal/mol
Ki hum.:	Arg 1: 1,92 nM; Arg 2: 1,20 nM

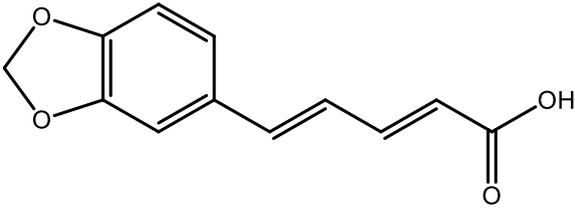
Estrutura:	
Nome:	Ácido 5,6-dimetoxi-2,2-dimetil-2H-1-benzopirano-8-propanóico
ID NuBBE:	1017
Ativ. leish.:	não há na literatura
Alvo:	-
Fonte:	-
Afin. Leish.:	-13,92 kcal/mol
Ki leish.:	172,54 pM
Afin. Human.:	Arg 1: -11,39 kcal/mol; Arg 2: -12,54 kcal/mol
Ki hum.:	Arg 1: 4,44 nM; Arg 2: 642,56 pM

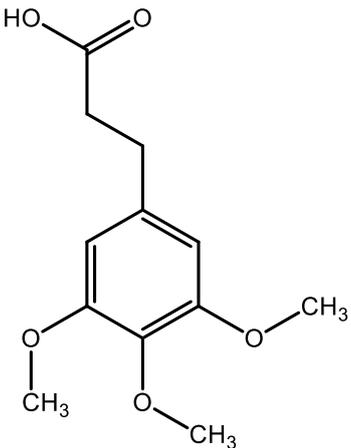
Estrutura:	
Nome:	Ácido 5,8-dimetoxi-2,2-dimetil-2H-1-benzopirano-6-propanóico
ID NuBBE:	1022
Ativ. leish.:	não há na literatura
Alvo:	-
Fonte:	-
Afin. Leish.:	-13,30 kcal/mol
Ki leish.:	177,67 pM
Afin. Human.:	Arg 1: -11,49 kcal/mol; Arg 2: -11,61 kcal/mol
Ki hum.:	Arg 1: 3,78 nM; Arg 2: 3,11 nM

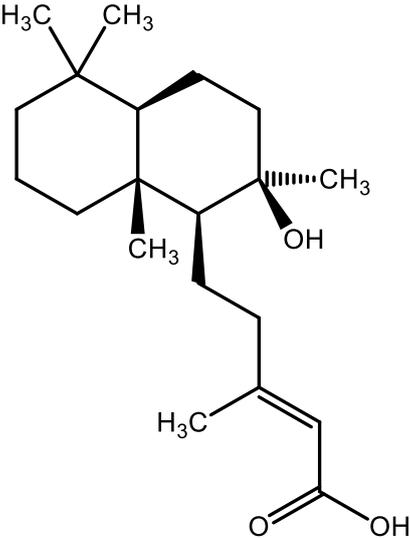
Estrutura:	
Nome:	Ácido eperua-7,13-dien-15-óico
ID NuBBE:	2391a
Ativ. leish.:	não há na literatura
Alvo:	-
Fonte:	-
Afin. Leish.:	-13,30 kcal/mol
Ki leish.:	179,21 pM
Afin. Human.:	Arg 1: -11,43 kcal/mol; Arg 2: -11,95 kcal/mol
Ki hum.:	Arg 1: 4,18 nM; Arg 2: 1,73 nM

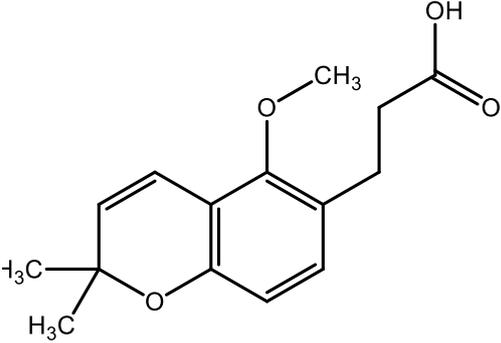
Estrutura:	
Nome:	Ácido agático
ID NuBBE:	2388
Ativ. leish.:	Atividade conhecida
Alvo:	<i>Leishmania major</i> Dihydroorotate Dehydrogenase
Fonte:	CHIBLI et al., 2018
Afin. Leish.:	-13,27 kcal/mol
Ki leish.:	-187,97 pM
Afin. Human.:	Arg 1: -10,61 kcal/mol; Arg 2: -10,65 kcal/mol
Ki hum.:	Arg 1: 467,99 nM; Arg 2: 15,54 nM

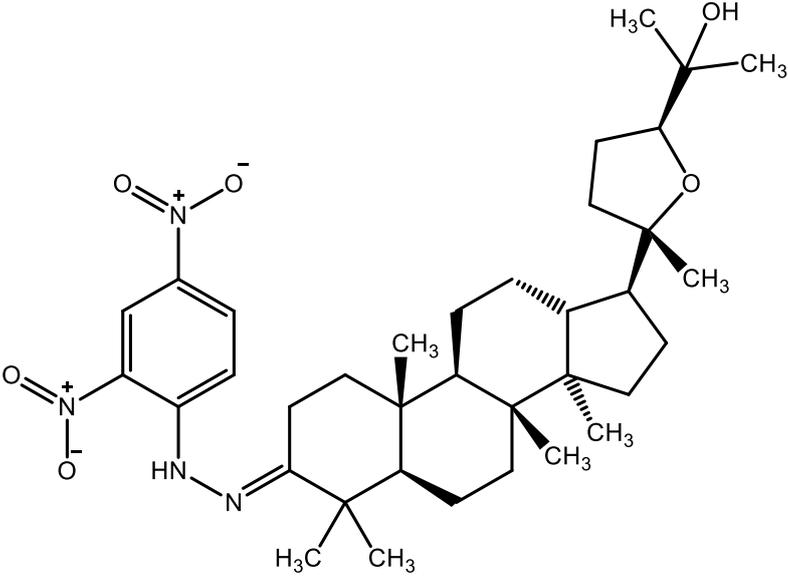
Estrutura:	
Nome:	Ácido labdan-8β-ol-15-óico
ID NuBBE:	2393
Ativ. leish.:	não há na literatura
Alvo:	-
Fonte:	-
Afin. Leish.:	-13,27 kcal/mol
Ki leish.:	-187,97 pM
Afin. Human.:	Arg 1: -11,83 kcal/mol; Arg 2: -12,15 kcal/mol
Ki hum.:	Arg 1: 2,15 nM; Arg 2: 1,25 nM

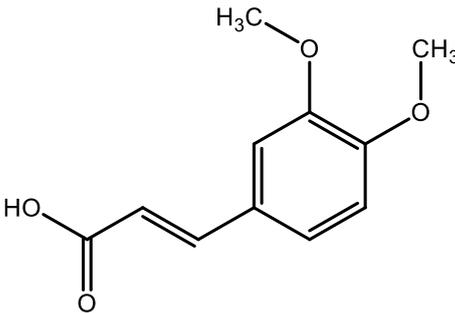
Estrutura:	
Nome:	Ácido pipérico
ID NuBBE:	30
Ativ. leish.:	Atividade conhecida
Alvo:	<i>Leishmania amazonensis</i> ; <i>Leishmania donovani</i>
Fonte:	FERREIRA et al., 2011; SINGH et al., 2010
Afin. Leish.:	-13 ,02 kcal/mol
Ki leish.:	283,66 pM
Afin. Human.:	Arg 1: -11,75 kcal/mol; Arg 2: -11,30 kcal/mol
Ki hum.:	Arg 1: 2,42 nM; Arg 2: 5,22 nM

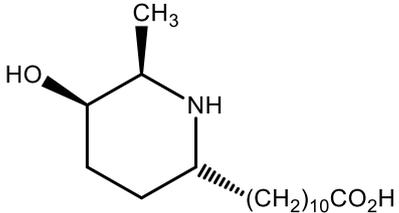
Estrutura:	
Nome:	Ácido 3,4,5-trimetoxodihidrocinâmico
ID NuBBE:	343
Ativ. leish.:	Atividade conhecida
Alvo:	<i>Leishmania amazonensis</i>
Fonte:	CURY et al., 2015; FERREIRA et al., 2010
Afin. Leish.:	-13,01 kcal/mol
Ki leish.:	292,39 pM
Afin. Human.:	Arg 1: -10,46 kcal/mol; Arg 2: -11,23 kcal/mol
Ki hum.:	Arg 1: 21,53 nM; Arg 2: 5,87 nM

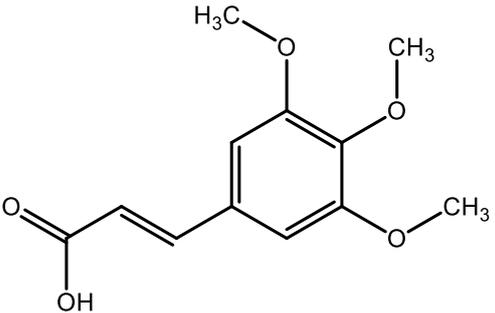
Estrutura:	
Nome:	Ácido lab-13-en-8β-ol-15-óico
ID NuBBE:	2392
Ativ. leish.:	não há na literatura
Alvo:	-
Fonte:	-
Afin. Leish.:	-12,92 kcal/mol
Ki leish.:	339,66 pM
Afin. Human.:	Arg 1: -11,95 kcal/mol; Arg 2: -11,57 kcal/mol
Ki hum.:	Arg 1: 1,73 nM; Arg 2: 3,33 nM

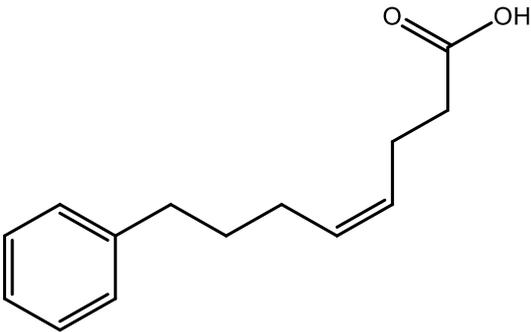
Estrutura:	
Nome:	Ácido 5-metoxi-2,2-dimetil-2H-1-benzopiran-6-propanóico
ID NuBBE:	1024
Ativ. leish.:	não há na literatura
Alvo:	-
Fonte:	-
Afin. Leish.:	-12,56 kcal/mol
Ki leish.:	622,55 pM
Afin. Human.:	Arg 1: -11,29 kcal/mol; Arg 2: -11,87 kcal/mol
Ki hum.:	Arg 1: 5,33 nM; Arg 2: 1,99 nM

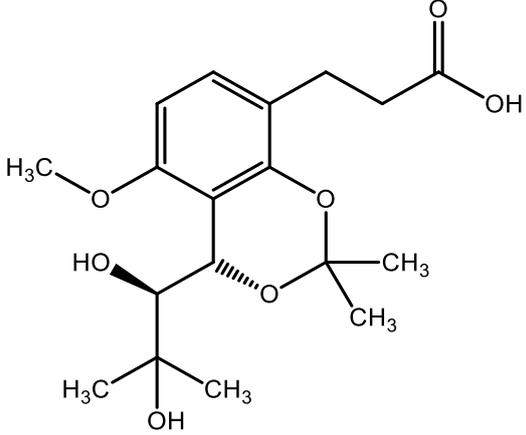
Estrutura:	 <p>The chemical structure of Cabraleona is a complex pentacyclic molecule. It features a central pentacyclic core with several methyl groups (CH₃) and a furanose ring. Attached to the core is a 4,6-dinitrophenylhydrazone group, which consists of a benzene ring with nitro groups (NO₂) at the 4 and 6 positions, and a hydrazone group (HN=N) at the 1 position. The furanose ring is substituted with a methyl group (CH₃) and a hydroxyl group (OH).</p>
Nome:	Cabraleona
ID NuBBE:	1727
Ativ. leish.:	não há na literatura
Alvo:	-
Fonte:	-
Afin. Leish.:	-12,55 kcal/mol
Ki leish.:	634,00 pM
Afin. Human.:	Arg 1: -10,97 kcal/mol; Arg 2: -10,51 kcal/mol
Ki hum.:	Arg 1: 9,17 nM; Arg 2: 19,87 nM

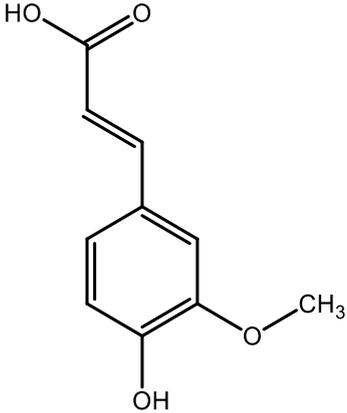
Estrutura:	
Nome:	Ácido (E)-3,4-dimetoxicinâmico
ID NuBBE:	1952
Ativ. leish.:	não há na literatura
Alvo:	-
Fonte:	-
Afin. Leish.:	-12,55 kcal/mol
Ki leish.:	627,56 pM
Afin. Human.:	Arg 1: -10,69 kcal/mol; Arg 2: -10,74 kcal/mol
Ki hum.:	Arg 1: 14,54 nM; Arg 2: 13,41 pM

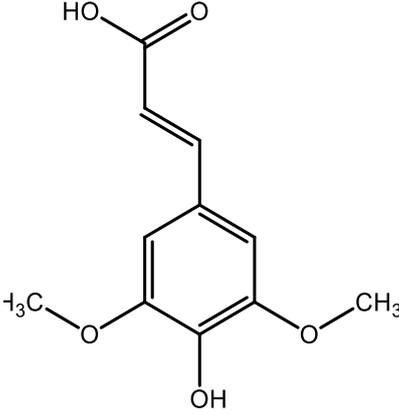
Estrutura:	
Nome:	Leptofilina B
ID NuBBE:	457
Ativ. leish.:	não há na literatura
Alvo:	-
Fonte:	-
Afin. Leish.:	-12,30 kcal/mol
Ki leish.:	969,13 pM
Afin. Human.:	Arg 1: -10,86 kcal/mol; Arg 2: -12,63 kcal/mol
Ki hum.:	Arg 1: 10,87 nM; Arg 2: 554,18 pM

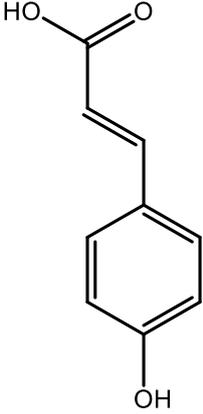
Estrutura:	
Nome:	
ID NuBBE:	31
Ativ. leish.:	Atividade conhecida
Alvo:	<i>Leishmania amazonensis</i> ; <i>L. braziliensis</i>
Fonte:	NÓBREGA et al., 2019; CURY et al., 2015 / RODRIGUES et al., 2019
Afin. Leish.:	-12,23 kcal/mol
Ki leish.:	1,09 nM
Afin. Human.:	Arg 1: -10,54 kcal/mol; Arg 2: -10,60 kcal/mol
Ki hum.:	Arg 1: 18,87 nM; Arg 2: 16,98 nM

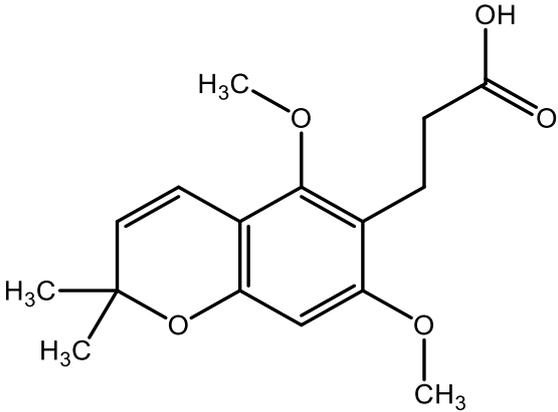
Estrutura:	
Nome:	Ácido alquenóico
ID NuBBE:	950
Ativ. leish.:	não há na literatura
Alvo:	-
Fonte:	-
Afin. Leish.:	-12,16 kcal/mol
Ki leish.:	1,22 nM
Afin. Human.:	Arg 1: -10,88 kcal/mol; Arg 2: -11,20 kcal/mol
Ki hum.:	Arg 1: 10,67 nM; Arg 2: 6,20 nM

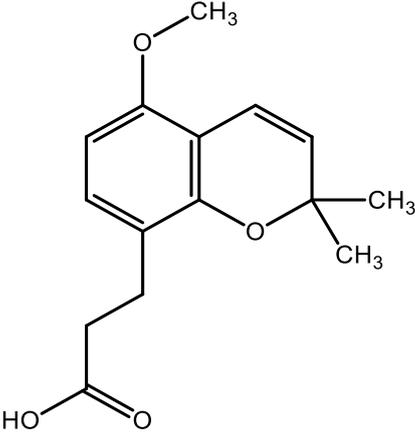
Estrutura:	
Nome:	Ácido eritro-5-metoxi-2,2-dimetil-4-(1,2-dihidroxi-2-metilpropil)-4H-1,3-benzodioxin-8-propanóico
ID NuBBE:	1018
Ativ. leish.:	não há na literatura
Alvo:	-
Fonte:	-
Afin. Leish.:	-12,12 kcal/mol
Ki leish.:	1,30 nM
Afin. Human.:	Arg 1: -11,84 kcal/mol; Arg 2: -11,67 kcal/mol
Ki hum.:	Arg 1: 2,08 nM; Arg 2: 2,80 nM

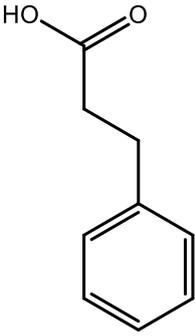
Estrutura:	
Nome:	Ácido ferúlico
ID NuBBE:	135
Ativ. leish.:	Atividade conhecida
Alvo:	<i>Leishmania amazonensis</i>
Fonte:	MORAES NETO et al., 2019.
Afin. Leish.:	-12,10 kcal/mol
Ki leish.:	1,35 nM
Afin. Human.:	Arg 1: -10,87 kcal/mol; Arg 2: -10,96 kcal/mol
Ki hum.:	Arg 1: 10,79 nM; Arg 2: 9,30 nM

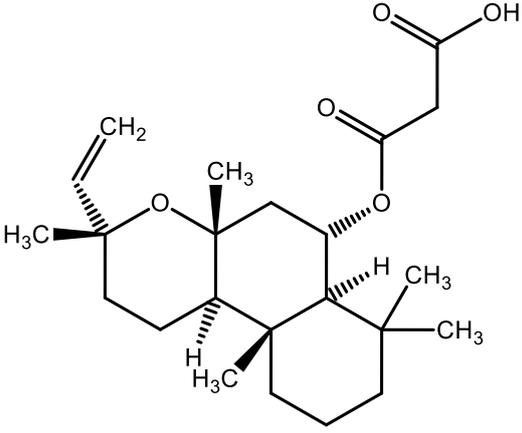
Estrutura:	
Nome:	Ácido sinápico
ID NuBBE:	136
Ativ. leish.:	Atividade conhecida
Alvo:	<i>Leishmania amazonensis</i>
Fonte:	MONZOTE et al., 2016
Afin. Leish.:	-11,94 kcal/mol
Ki leish.:	1,78 nM
Afin. Human.:	Arg 1: -10,81 kcal/mol; Arg 2: -10,68 kcal/mol
Ki hum.:	Arg 1: 11,87 nM; Arg 2: 14,75 nM

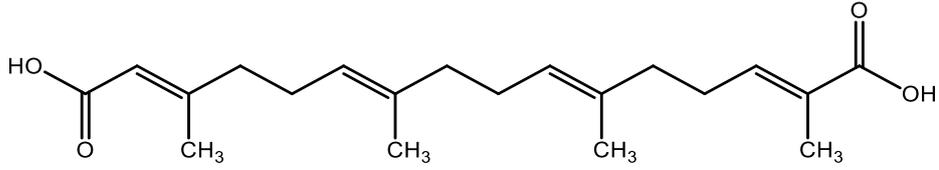
Estrutura:	
Nome:	Ácido p-cumárico
ID NuBBE:	633
Ativ. leish.:	Atividade conhecida
Alvo:	<i>Leishmania donovani</i>
Fonte:	KAUR et al., 2010
Afin. Leish.:	-11,90 kcal/mol
Ki leish.:	1,90 nM
Afin. Human.:	Arg 1: -10,70 kcal/mol; Arg 2: -10,84 kcal/mol
Ki hum.:	Arg 1: 14,33 nM; Arg 2: 11,40 nM

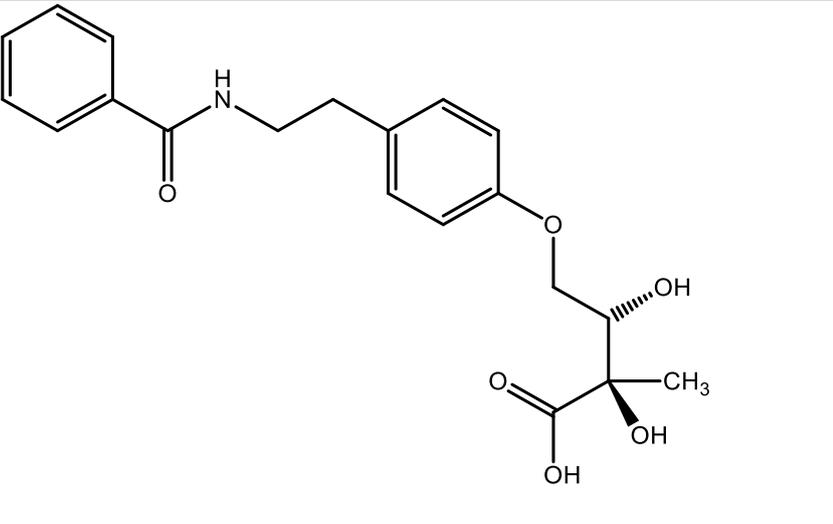
Estrutura:	
Nome:	Ácido 5,7-dimetoxi-2,2-dimetil-2H-1-benzopirano-6-propanóico
ID NuBBE:	1020
Ativ. leish.:	Atividade conhecida
Alvo:	<i>Leishmania tarentolae</i> adenine phosphoribosyltransferase
Fonte:	SILVA et al., 2003
Afin. Leish.:	-11,86 kcal/mol
Ki leish.:	2,04 nM
Afin. Human.:	Arg 1: -10,24 kcal/mol; Arg 2: -10,35 kcal/mol
Ki hum.:	Arg 1: 31,16 nM; Arg 2: 26,04 nM

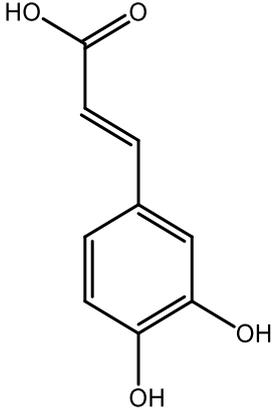
Estrutura:	
Nome:	Ácido 5-metoxi-2,2-dimetil-2H-1-benzopiran-8-propanóico
ID NuBBE:	1016
Ativ. leish.:	não há na literatura
Alvo:	-
Fonte:	-
Afin. Leish.:	-11,85 kcal/mol
Ki leish.:	2,06 nM
Afin. Human.:	Arg 1: -11,16 kcal/mol; Arg 2: -11,16 kcal/mol
Ki hum.:	Arg 1: 6,61 nM; Arg 2: 6,64 nM

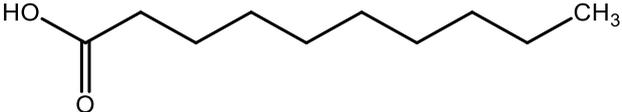
Estrutura:	
Nome:	Ácido ω-fenil alcanóico
ID NuBBE:	949
Ativ. leish.:	não há na literatura
Alvo:	-
Fonte:	-
Afin. Leish.:	-11,80 kcal/mol
Ki leish.:	2,23 nM
Afin. Human.:	Arg 1: -10,69 kcal/mol; Arg 2: -10,53 kcal/mol
Ki hum.:	Arg 1: 14,62 nM; Arg 2: 19,07 nM

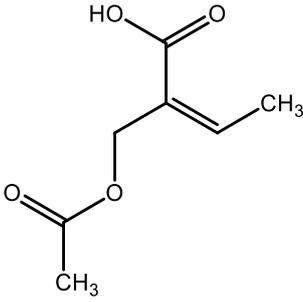
Estrutura:	
Nome:	Óxido 6α-maloniloximanoil
ID NuBBE:	144
Ativ. leish.:	não há na literatura
Alvo:	-
Fonte:	-
Afin. Leish.:	-11,78 kcal/mol
Ki leish.:	2,31 nM
Afin. Human.:	Arg 1: -12,11 kcal/mol; Arg 2: -12,31 kcal/mol
Ki hum.:	Arg 1: 1,34 nM; Arg 2: 952,13 pM

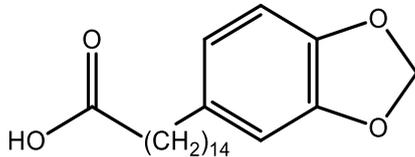
Estrutura:	
Nome:	Ácido 1,6-geranylgeranodióico
ID NuBBE:	1655
Ativ. leish.:	não há na literatura
Alvo:	-
Fonte:	-
Afin. Leish.:	-11,75 kcal/mol
Ki leish.:	2,45 nM
Afin. Human.:	Arg 1: -10,88 kcal/mol; Arg 2: -10,46 kcal/mol
Ki hum.:	Arg 1: 10,52 nM; Arg 2: 21,35 nM

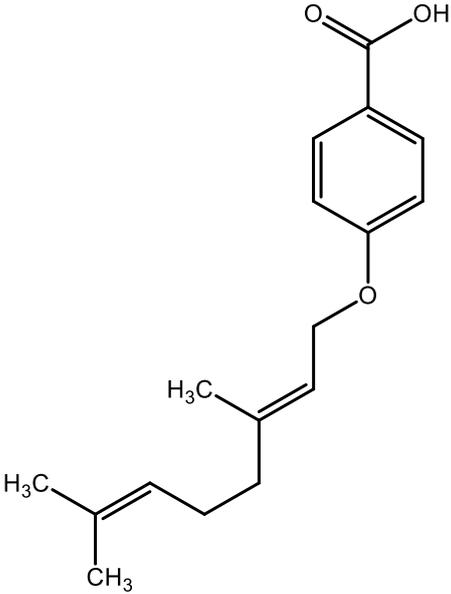
Estrutura:	
Nome:	N-{2-[4-(2,3-dihidroxi-2-metil-butoxilóico)fenil]etil}benzamida
ID NuBBE:	975c
Ativ. leish.:	não há na literatura
Alvo:	-
Fonte:	-
Afin. Leish.:	-11,57 kcal/mol
Ki leish.:	3,29 nM
Afin. Human.:	Arg 1: -9,73 kcal/mol; Arg 2: -10,12 kcal/mol
Ki hum.:	Arg 1: 73,89 nM; Arg 2: 38,33 nM

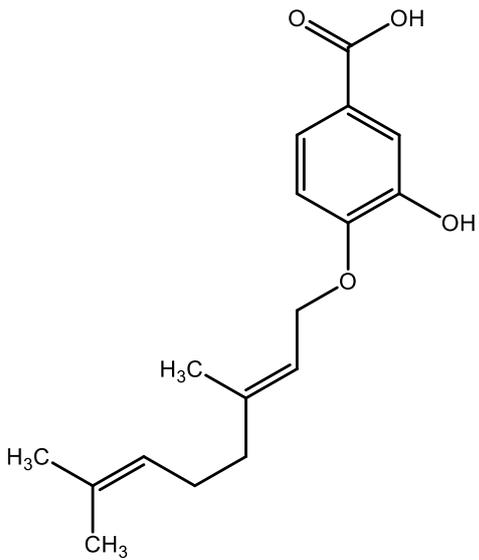
Estrutura:	
Nome:	Ácido caféico
ID NuBBE:	134
Ativ. leish.:	Atividade conhecida
Alvo:	<i>Leishmania infantum arginase / Leishmania amazonensis arginase</i>
Fonte:	GARCIA et al., 2019 / DA SILVA et al., 2019
Afin. Leish.:	-11,55 kcal/mol
Ki leish.:	3,44 nM
Afin. Human.:	Arg 1: -10,97 kcal/mol; Arg 2: -10,95 kcal/mol
Ki hum.:	Arg 1: 9,04 nM; Arg 2: 9,48 nM

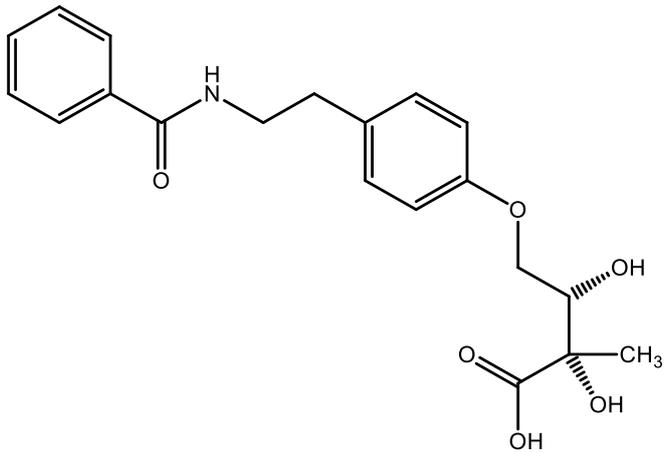
Estrutura:	
Nome:	Ácido cáprico
ID NuBBE:	2142
Ativ. leish.:	não há na literatura
Alvo:	-
Fonte:	-
Afin. Leish.:	-11,55 kcal/mol
Ki leish.:	3,45 nM
Afin. Human.:	Arg 1: -10,26 kcal/mol; Arg 2: -10,16 kcal/mol
Ki hum.:	Arg 1: 30,38 nM; Arg 2: 35,94 nM

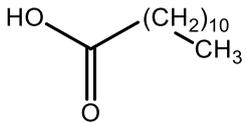
Estrutura:	
Nome:	Ácido acetilsarracínico
ID NuBBE:	2211
Ativ. leish.:	não há na literatura
Alvo:	-
Fonte:	-
Afin. Leish.:	-11,53 kcal/mol
Ki leish.:	3,52 nM
Afin. Human.:	Arg 1: -7,93 kcal/mol; Arg 2: -11,02 kcal/mol
Ki hum.:	Arg 1: 1,53 uM; Arg 2: 8,33 nM

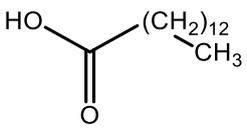
Estrutura:	
Nome:	Ácido 15'-(3,4-metilenedioxifenil)-pentadecanóico
ID NuBBE:	642
Ativ. leish.:	não há na literatura
Alvo:	-
Fonte:	-
Afin. Leish.:	-11,42 kcal/mol
Ki leish.:	4,23 nM
Afin. Human.:	Arg 1: -10,93 kcal/mol; Arg 2: -9,55 kcal/mol
Ki hum.:	Arg 1: 9,78 nM; Arg 2: 100,39 nM

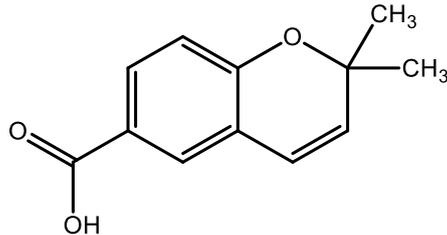
Estrutura:	
Nome:	Ácido p-O-geranil-benzóico
ID NuBBE:	5
Ativ. leish.:	não há na literatura
Alvo:	-
Fonte:	-
Afin. Leish.:	-11,33 kcal/mol
Ki leish.:	4,93 nM
Afin. Human.:	Arg 1: -10,61 kcal/mol; Arg 2: -10,87 kcal/mol
Ki hum.:	Arg 1: 16,83 nM; Arg 2: 10,84 nM

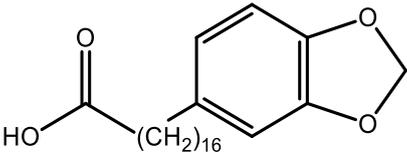
Estrutura:	
Nome:	Ácido 4-O-geranil-3-hidroxibenzóico
ID NuBBE:	2
Ativ. leish.:	não há na literatura
Alvo:	-
Fonte:	-
Afin. Leish.:	-11,39 kcal/mol
Ki leish.:	4,45 nM
Afin. Human.:	Arg 1: -9,54 kcal/mol; Arg 2: -9,29 kcal/mol
Ki hum.:	Arg 1: 101,63 nM; Arg 2: 155,16 nM

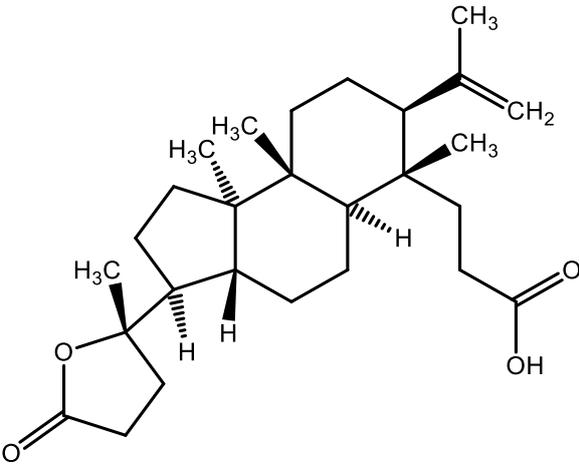
Estrutura:	
Nome:	N-(2-[4-(2,3-dihidroxi-2-metil-butoxilóico)fenil]etil)benzamida
ID NuBBE:	975d
Ativ. leish.:	não há na literatura
Alvo:	-
Fonte:	-
Afin. Leish.:	-11,29 kcal/mol
Ki leish.:	5,33 nM
Afin. Human.:	Arg 1: -8,13 kcal/mol; Arg 2: -9,32 kcal/mol
Ki hum.:	Arg 1: 1,10 uM; Arg 2: 147,92 nM

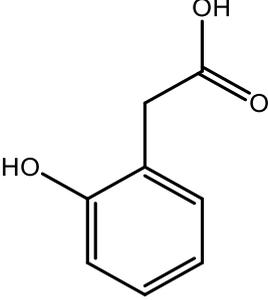
Estrutura:	
Nome:	Ácido laurico
ID NuBBE:	2143
Ativ. leish.:	Atividade conhecida
Alvo:	<i>Leishmania donovani</i> , <i>L. tropica</i>
Fonte:	CUNNINGHAM; KAZAN; KUWAHARA, 1972
Afin. Leish.:	-11,27 kcal/mol
Ki leish.:	5,52 nM
Afin. Human.:	Arg 1: -9,73 kcal/mol; Arg 2: -9,85 kcal/mol
Ki hum.:	Arg 1: 74,28 nM; Arg 2: 60,67 nM

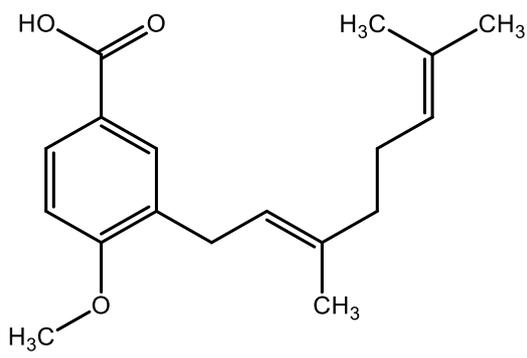
Estrutura:	
Nome:	Ácido mirístico
ID NuBBE:	2144
Ativ. leish.:	não há na literatura
Alvo:	-
Fonte:	-
Afin. Leish.:	-11,22 kcal/mol
Ki leish.:	5,98 nM
Afin. Human.:	Arg 1: -9,77 kcal/mol; Arg 2: -9,75 kcal/mol
Ki hum.:	Arg 1: 68,94 nM; Arg 2: 70,74 nM

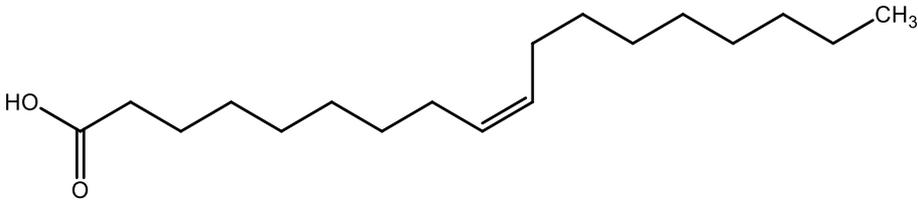
Estrutura:	
Nome:	Ácido 2,2-dimetil-2H-cromen-6-carboxílico
ID NuBBE:	149
Ativ. leish.:	não há na literatura
Alvo:	-
Fonte:	-
Afin. Leish.:	-11,19 kcal/mol
Ki leish.:	6,24 nM
Afin. Human.:	Arg 1: -10,08 kcal/mol; Arg 2: -10,28 kcal/mol
Ki hum.:	Arg 1: 40,75 nM; Arg 2: 29,31 nM

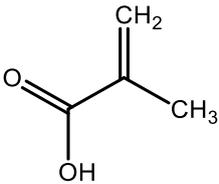
Estrutura:	
Nome:	Ácido 17-(3,4-metilenedioxifenil)-heptadecanóico
ID NuBBE:	185
Ativ. leish.:	não há na literatura
Alvo:	-
Fonte:	-
Afin. Leish.:	-10,94 kcal/mol
Ki leish.:	9,61 nM
Afin. Human.:	Arg 1: -9,34 kcal/mol; Arg 2: -9,35 kcal/mol
Ki hum.:	Arg 1: 142,45 nM; Arg 2: 141,12 nM

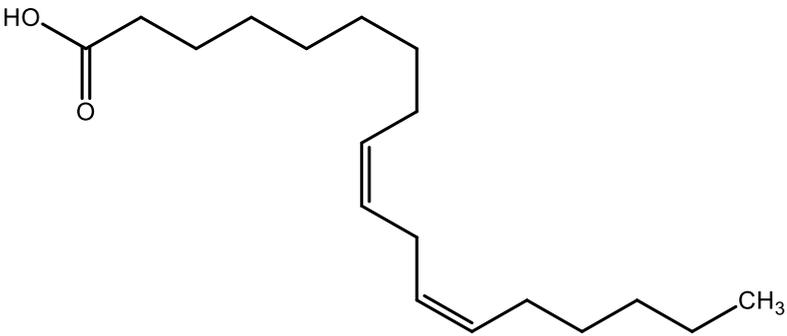
Estrutura:	
Nome:	Eichlerialactona
ID NuBBE:	1257
Ativ. leish.:	não há na literatura
Alvo:	-
Fonte:	-
Afin. Leish.:	-10,94 kcal/mol
Ki leish.:	9,52 nM
Afin. Human.:	Arg 1: -11,26 kcal/mol; Arg 2: -9,24 kcal/mol
Ki hum.:	Arg 1: 5,58 nM; Arg 2: 168,16 nM

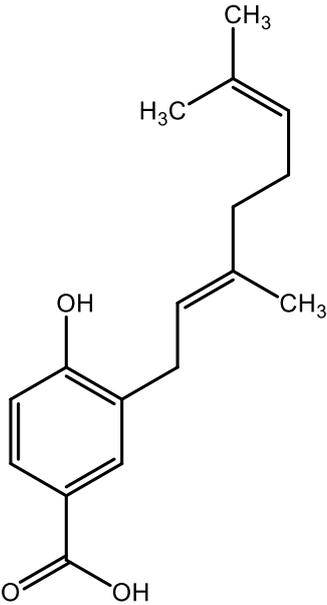
Estrutura:	
Nome:	Ácido 2-hidroxifenilacético
ID NuBBE:	277
Ativ. leish.:	não há na literatura
Alvo:	-
Fonte:	-
Afin. Leish.:	-10,89 kcal/mol
Ki leish.:	10,48 nM
Afin. Human.:	Arg 1: -9,98 kcal/mol; Arg 2: -10,15 kcal/mol
Ki hum.:	Arg 1: 48,20 nM; Arg 2: 36,10 nM

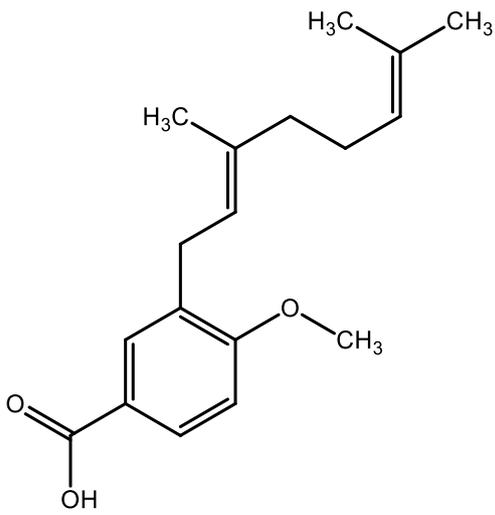
Estrutura:	
Nome:	Ácido 4-metoxi-3-(3',7'-dimetilocta-2'-E-6'-dienil)benzóico
ID NuBBE:	349
Ativ. leish.:	Atividade conhecida
Alvo:	<i>Leishmania amazonensis</i>
Fonte:	CABANILLAS et al., 2012
Afin. Leish.:	-10,89 kcal/mol
Ki leish.:	10,36 nM
Afin. Human.:	Arg 1: -9,08 kcal/mol; Arg 2: -8,92 kcal/mol
Ki hum.:	Arg 1: 219,10 nM; Arg 2: 287,11 pM

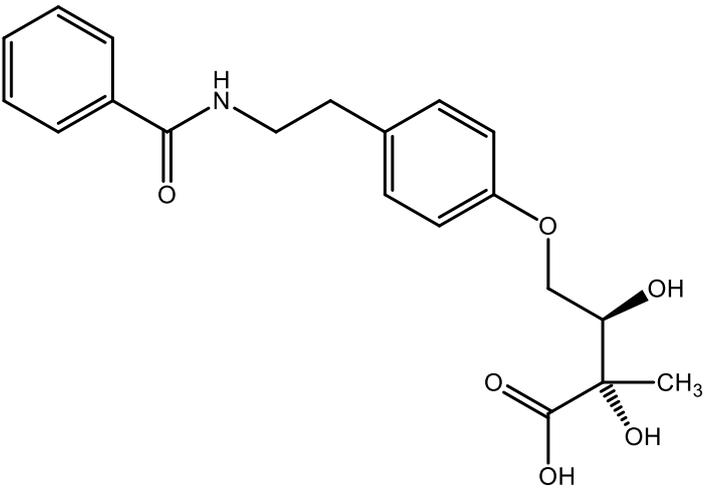
Estrutura:	
Nome:	Ácido oleico
ID NuBBE:	2145
Ativ. leish.:	Atividade conhecida (com combinação com anfotericina B)
Alvo:	<i>Leishmania major</i> (in vivo)
Fonte:	PINHEIRO et al., 2016
Afin. Leish.:	-10,89 kcal/mol
Ki leish.:	10,39 nM
Afin. Human.:	Arg 1: -9,75 kcal/mol; Arg 2: -9,74 kcal/mol
Ki hum.:	Arg 1: 71,17 nM; Arg 2: 72,06 nM

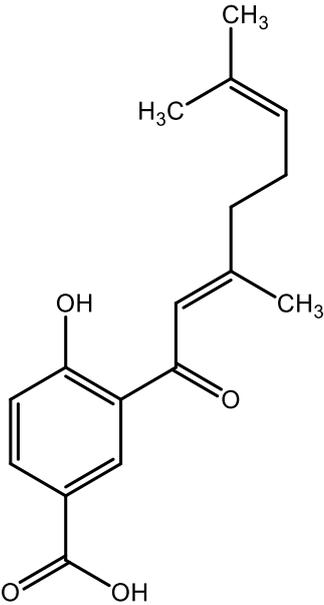
Estrutura:	
Nome:	Ácido metacrílico
ID NuBBE:	1202
Ativ. leish.:	não há na literatura
Alvo:	-
Fonte:	-
Afin. Leish.:	-10,86 kcal/mol
Ki leish.:	10,94 nM
Afin. Human.:	Arg 1: -9,49 kcal/mol; Arg 2: -9,76 kcal/mol
Ki hum.:	Arg 1: 109,93 nM; Arg 2: 70,31 nM

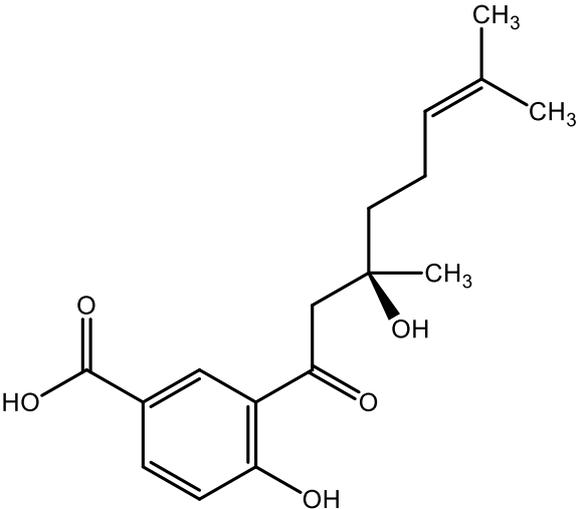
Estrutura:	
Nome:	Ácido linoleico
ID NuBBE:	2146
Ativ. leish.:	Atividade conhecida
Alvo:	<i>Leishmania Donovan (in vivo)</i>
Fonte:	SAINI, 2020
Afin. Leish.:	-10,85 kcal/mol
Ki leish.:	11,14 nM
Afin. Human.:	Arg 1: -9,26 kcal/mol; Arg 2: -9,81 kcal/mol
Ki hum.:	Arg 1: 162,13 nM; Arg 2: 64,79 nM

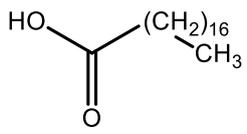
Estrutura:	
Nome:	Ácido 4-hidroxi-3-(3',7'-dimetilocta-2'-E-6'-dienil)benzóico
ID NuBBE:	357
Ativ. leish.:	Atividade conhecida
Alvo:	<i>Leishmania amazonensis</i> , <i>L. brasiliensis</i> e <i>L. donovani</i>
Fonte:	FLORES et al., 2009
Afin. Leish.:	-10,82 kcal/mol
Ki leish.:	11,79 nM
Afin. Human.:	Arg 1: -9,87 kcal/mol; Arg 2: -10,61 kcal/mol
Ki hum.:	Arg 1: 58,03 nM; Arg 2: 16,71 nM

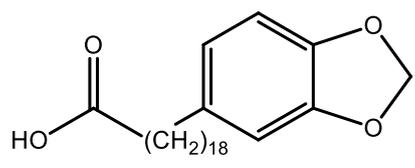
Estrutura:	
Nome:	Ácido 3-(3',7'-dimetil-2',6'-octadienil)-4-metoxi-benzóico
ID NuBBE:	421
Ativ. leish.:	Atividade conhecida
Alvo:	<i>Leishmania amazonensis</i> , <i>L. brasiliensis</i> e <i>L. donovani</i>
Fonte:	CABANILLAS et al., 2012; FLORES et al., 2009
Afin. Leish.:	-10,79 kcal/mol
Ki leish.:	12,35 nM
Afin. Human.:	Arg 1: -10,35 kcal/mol; Arg 2: -10,01 kcal/mol
Ki hum.:	Arg 1: 25,72 nM; Arg 2: 45,97 nM

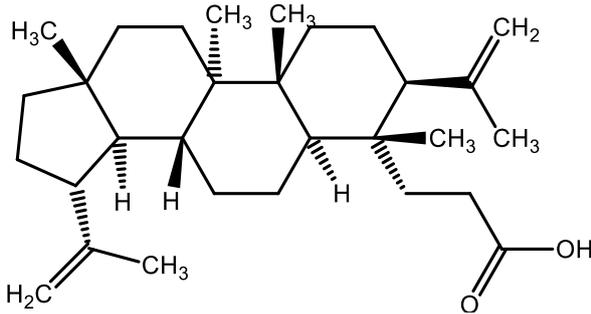
Estrutura:	
Nome:	N-(2-[4-(2,3-dihidroxi-2-metil-butoxilóico)fenil]etil)benzamida
ID NuBBE:	975a
Ativ. leish.:	não há na literatura
Alvo:	-
Fonte:	-
Afin. Leish.:	-10,76 kcal/mol
Ki leish.:	13,05 nM
Afin. Human.:	Arg 1: -9,25 kcal/mol; Arg 2: -9,85 kcal/mol
Ki hum.:	Arg 1: 164,60 nM; Arg 2: 60,04 nM

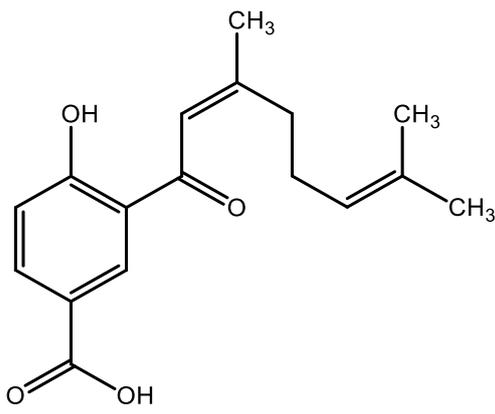
Estrutura:	
Nome:	Ácido 4-hidroxi-(3',7'-dimetil-1'-oxo-octa-2'-E-6'-dienil)benzóico
ID NuBBE:	289
Ativ. leish.:	não há na literatura
Alvo:	-
Fonte:	-
Afin. Leish.:	-10,67 kcal/mol
Ki leish.:	14,98 nM
Afin. Human.:	Arg 1: -9,09 kcal/mol; Arg 2: -9,19 kcal/mol
Ki hum.:	Arg 1: 218,28 nM; Arg 2: 183,55 nM

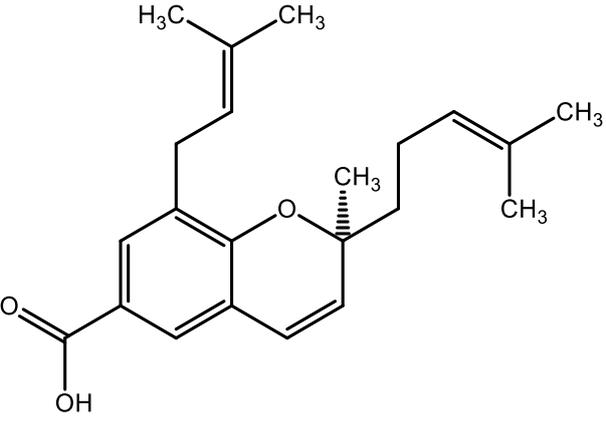
Estrutura:	
Nome:	Ácido 4-hidroxi-3-(3',7'-dimetil-3'-hidroxi-1'-oxo-6'-octenil)benzóico
ID NuBBE:	290a
Ativ. leish.:	não há na literatura
Alvo:	-
Fonte:	-
Afin. Leish.:	-10,59 kcal/mol
Ki leish.:	17,31 nM
Afin. Human.:	Arg 1: -10,08 kcal/mol; Arg 2: -9,37 kcal/mol
Ki hum.:	Arg 1: 40,67 nM; Arg 2: 135,19 nM

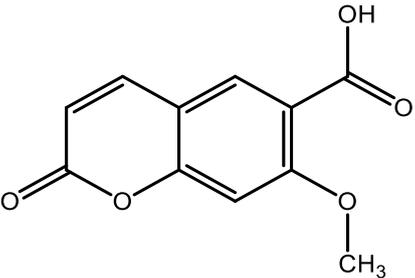
Estrutura:	
Nome:	Ácido esteárico
ID NuBBE:	1906
Ativ. Leish.:	não há na literatura
Alvo:	-
Fonte:	-
Afin. Leish.:	-10,57 kcal/mol
Ki leish.:	17,97 nM
Afin. Human.:	Arg 1: -9,02 kcal/mol; Arg 2: -9,81 kcal/mol
Ki hum.:	Arg 1: 245,22 nM; Arg 2: 64,58 nM

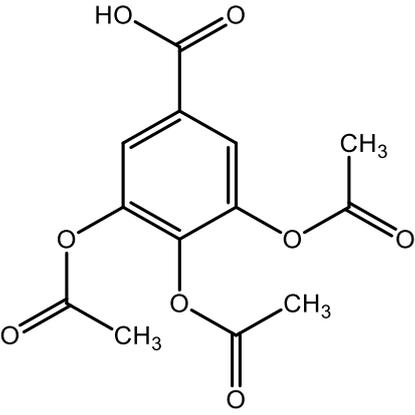
Estrutura:	
Nome:	Ácido 19'-(3,4-metilenedioxifenil)-nonadecanóico
ID NuBBE:	186
Ativ. Leish.:	não há na literatura
Alvo:	-
Fonte:	-
Afin. Leish.:	-10,56 kcal/mol
Ki leish.:	18,20 nM
Afin. Human.:	Arg 1: -9,18 kcal/mol; Arg 2: -9,49 kcal/mol
Ki hum.:	Arg 1: 187,53 nM; Arg 2: 110,57 nM

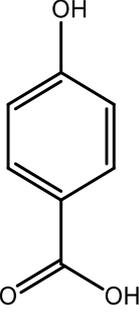
Estrutura:	
Nome:	Ácido canárico
ID NuBBE:	433
Ativ. Leish.:	não há na literatura
Alvo:	-
Fonte:	-
Afin. Leish.:	-10,55 kcal/mol
Ki leish.:	18,44 nM
Afin. Human.:	Arg 1: -11,12 kcal/mol; Arg 2: -12,44 kcal/mol
Ki hum.:	Arg 1: 7,09 nM; Arg 2: 759,83 pM

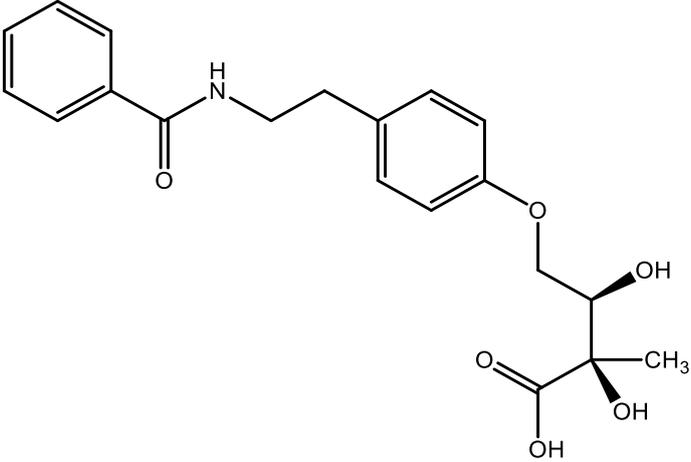
Estrutura:	
Nome:	Ácido 4-hidroxi-(3',7'-dimetil-1'-oxo-octa-2'-Z-6'-dienil)benzóico
ID NuBBE:	342
Ativ. Leish.:	não há na literatura
Alvo:	-
Fonte:	-
Afin. Leish.:	-10,41 kcal/mol
Ki leish.:	23,57 nM
Afin. Human.:	Arg 1: -10,08 kcal/mol; Arg 2: -9,91 kcal/mol
Ki hum.:	Arg 1: 40,53 nM; Arg 2: 54,22 nM

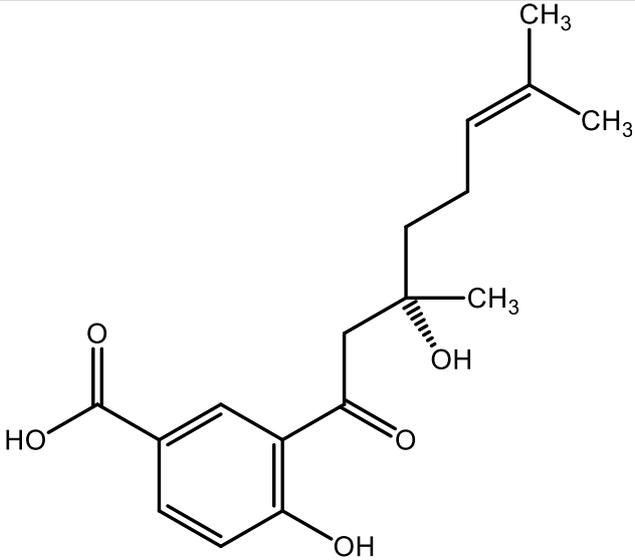
Estrutura:	
Nome:	Ácido (2S)-2-metil-8-(3''-metilbut-2''-enil)-2-(4'-metilpent-3'-enil)-2H-cromeno-6-carboxílico
ID NuBBE:	148
Ativ. Leish.:	não há na literatura
Alvo:	-
Fonte:	-
Afin. Leish.:	-10,31 kcal/mol
Ki leish.:	27,84 nM
Afin. Human.:	Arg 1: -10,06 kcal/mol; Arg 2: -9,63 kcal/mol
Ki hum.:	Arg 1: 42,30 nM; Arg 2: 87,37 nM

Estrutura:	
Nome:	Buntasina
ID NuBBE:	1266
Ativ. Leish.:	não há na literatura
Alvo:	-
Fonte:	-
Afin. Leish.:	-10,30 kcal/mol
Ki leish.:	28,13 nM
Afin. Human.:	Arg 1: -8,77 kcal/mol; Arg 2: -10,72 kcal/mol
Ki hum.:	Arg 1: 370,15 nM; Arg 2: 13,87 nM

Estrutura:	
Nome:	Ácido 3,4,5-triacetoxibenzoico
ID NuBBE:	631
Ativ. Leish.:	não há na literatura
Alvo:	-
Fonte:	-
Afin. Leish.:	-10,28 kcal/mol
Ki leish.:	735,05 uM
Afin. Human.:	Arg 1: -9,30 kcal/mol; Arg 2: -10,33 kcal/mol
Ki hum.:	Arg 1: 153,19 nM; Arg 2: 26,88 nM

Estrutura:	
Nome:	Ácido p-hidroxibenzóico
ID NuBBE:	1200
Ativ. Leish.:	atividade conhecida
Alvo:	<i>Leishmania donovani</i>
Fonte:	KAUR et al., 2014
Afin. Leish.:	-10,26 kcal/mol
Ki leish.:	30,22 nM
Afin. Human.:	Arg 1: -9,58 kcal/mol; Arg 2: -9,67 kcal/mol
Ki hum.:	Arg 1: 95,79 nM; Arg 2: 81,97 nM

Estrutura:	
Nome:	N-{2-[4-(2,3-dihidroxi-2-metil-butoxilóico)fenil]etil}benzamida
ID NuBBE:	975b
Ativ. leish.:	não há na literatura
Alvo:	-
Fonte:	-
Afin. Leish.:	-10,25 kcal/mol
Ki leish.:	30,90 nM
Afin. Human.:	Arg 1: -8,90 kcal/mol; Arg 2: -9,20 kcal/mol
Ki hum.:	Arg 1: 299,70 nM; Arg 2: 179,21 nM

Estrutura:	
Nome:	Ácido 4-hidroxi-3-(3',7'-dimetil-3'-hidroxi-1'-oxo-6'-octenil)benzóico
ID NuBBE:	290B
Ativ. leish.:	não há na literatura
Alvo:	-
Fonte:	-
Afin. Leish.:	-10,07 kcal/mol
Ki leish.:	41,32 nM
Afin. Human.:	Arg 1: -8,63 kcal/mol; Arg 2: -8,11 kcal/mol
Ki hum.:	Arg 1: 474,82 nM; Arg 2: 1,13 uM

Fonte: Autor, 2021.