

PLANEJAMENTO COMPUTACIONAL DE DERIVADOS N-11-AZAARTEMISININA COM ATIVIDADES CONTRA PLASMODIUM FALCIPARUM

JEFERSON STIVER OLIVEIRA DE CASTRO
JOSÉ CIRÍACO PINHEIRO
ANTÔNIO FLORÊNCIO DE FIGUEIREDO
MARCOS ANTÔNIO BARROS DOS SANTOS
HERIBERTO RODRIGUES BITENCOURT

**PLANEJAMENTO COMPUTACIONAL
DE DERIVADOS N-11-
AZAARTEMISININA COM
ATIVIDADES CONTRA
PLASMODIUM FALCIPARUM**

Todo o conteúdo apresentado neste livro é de responsabilidade do(s) autor(es).

Esta publicação está licenciada sob [CC BY-NC-ND 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/)

Conselho Editorial

Prof. Dr. Ednilson Sergio Ramalho de Souza - UFOPA
(Editor-Chefe)

Prof. Dr. Laecio Nobre de Macedo-UFMA

Prof. Dr. Carlos Erick Brito de Sousa-UFMA

Prof. Dr. Rodolfo Maduro Almeida-UFOPA

Prof. Me. Éfrem Colombo Vasconcelos Ribeiro-IFPA

Prof. Me. Jorge Carlos Silva-ULBRA

“Acreditamos que um mundo melhor se faz com a difusão do conhecimento científico”.

Equipe Home Editora

Jeferson Stiver Oliveira de Castro
José Ciriaco Pinheiro
Antônio Florêncio de Figueiredo
Marcos Antônio Barros dos Santos
Heriberto Rodrigues Bitencourt

**PLANEJAMENTO COMPUTACIONAL
DE DERIVADOS N-11-
AZAARTEMISININA COM
ATIVIDADES CONTRA
PLASMODIUM FALCIPARUM**

1ª Edição

Belém-PA
Home Editora
2024

© 2024 Edição brasileira
by Home Editora

© 2024 Texto
by Autor

Todos os direitos reservados

Home Editora
CNPJ: 39.242.488/0002-80
www.homeeditora.com
contato@homeeditora.com
91988165332
Tv. Quintino Bocaiúva, 23011 - Batista
Campos, Belém - PA, 66045-315

Editor-Chefe

Prof. Dr. Ednilson Ramalho

Projeto gráfico

homeeditora.com

Revisão, diagramação e capa

Autores

Bibliotecária

Janaina Karina Alves Trigo Ramos

CRB-8/009166

Produtor editorial

Laiane Borges

Dados Internacionais de Catalogação na publicação (CIP)



P712

Planejamento computacional de derivados N-11-azaartemisina
com atividades contra plasmodium falciparum / Jeferson Stiver
Oliveira de Castro *et al.* – Belém: Home, 2024.

Outros autores

José Ciriaco Pinheiro

Antônio Florêncio de Figueiredo

Marcos Antônio Barros dos Santos

Heriberto Rodrigues Bitencourt

Livro em PDF

68p.

ISBN: 978-65-6089-052-7

DOI: 10.46898/home.8659af28-7eb6-4d9d-a596-
e84ec733e83c

1. Planejamento computacional de derivados N-11-azaartemisina. I.
Castro, Jeferson Stiver Oliveira de *et al.* II. Título.

CDD 619

Índice para catálogo sistemático

I. Biotecnologia.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	8
2 OBJETIVOS	13
2.1 GERAL	13
2.2 ESPECÍFICOS	13
3 MECANISMOS DE AÇÃO DA ARTEMISININA E DERIVADOS	14
4 METODOLOGIA	17
4.1 DERIVADOS N-11-AZAARTEMISININA ESTUDADOS.....	18
4.2 <i>MEP</i>	19
4.3 <i>MOLECULAR DOCKING</i>	20
4.4 MÉTODOS QUIMIOMÉTRICOS DE RECONHECIMENTO DE PADRÕES.....	21
4.4.1 PCA	22
4.4.2 HCA	24
4.4.3 KNN	25
4.4.4 SIMCA	26
4.4.5 SDA	26
4.5 DESCRITORES MOLECULARES.....	27
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
5.1 GEOMETRIAS OTIMIZADAS	29
5.2 MAPAS DE <i>MEP</i>	30
5.3 <i>MOLECULAR DOCKING</i>	33
5.4 <i>PCA</i>	38
5.5 <i>HCA</i>	41
5.6 <i>KNN</i>	44
5.7 <i>SIMCA</i>	46
5.8 <i>SDA</i>	47
6 CONCLUSÃO	59
REFERÊNCIAS	61

RESUMO

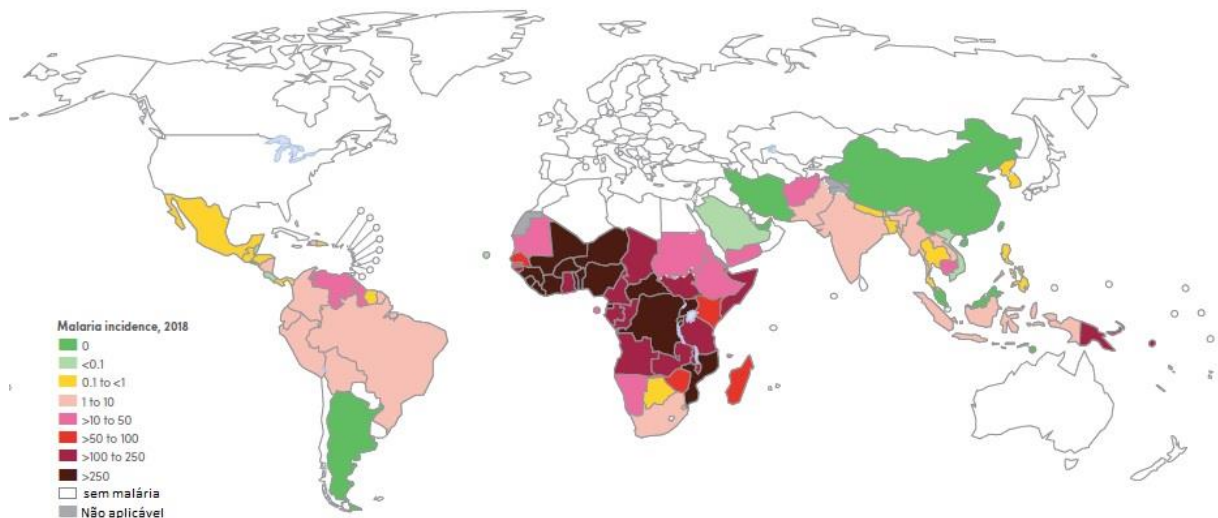
Potencial eletrostático molecular (*MEP, Molecular electrostatic potential*), interação ligante-receptor (*Molecular docking*) e técnicas de reconhecimento de padrões (*PR, Pattern recognition*): *Principal Component Analysis, PCA; Hierarchical Cluster Analysis, HCA; K-Nearest neighbor, K-NN; Soft Independent Modeling of Class Analogy, SIMCA; Stepwise discriminant Analysis, DAS*), foram usados para desenhar novos derivados da artemisinina potencialmente ativos contra malária do tipo *Plasmodium falciparum*. Na primeira etapa do estudo, *MEP* foi usado para identificar as características estruturais chaves de artemisinina e dezenove derivados *N-11-Azaartemisinina* antimaláricos, reportados na literatura, necessárias às suas atividades e para investigar eventuais interações com o receptor molecular através do reconhecimento em um processo biológico. Subsequentemente, estudos de *Molecular docking* desses derivados, com o receptor-HEME e de *PR* foram conduzidos para evidenciar outras interações com o alvo biológico. Os métodos *PR* demonstraram que os dezenove derivados *N-11-azaartemisinina* podem ser separados em duas classes: mais ativos e menos ativos, de acordo com seus graus de atividade contra *P. falciparum*. Propriedades tais como energia *LUMO+1* (ϵ_{LUMO+1} , *one level above the lowest unoccupied molecular orbital*), área superficial total (*TSA, total surface area*), distância entre C_6 e C_5 , $d(C_6-C_5)$ foram responsáveis pela classificação dos derivados *N-11-azaartemisinina* estudados em mais ativos e menos ativos. Os resultados obtidos pelo *MEP, Molecular docking* e *PR* permitiram a proposição de dezesseis novas *N-11-azaartemisininas* potencialmente ativas contra *P. falciparum*. Finalmente, os modelos *PR* construídos foram aplicados ao conjunto de predição evidenciando doze novas moléculas como mais promissoras contra *P. falciparum*. Os resultados deste estudo poderão ser usados na síntese e avaliação biológica dessas doze novas *N-11-azaartemisininas*, podendo validar a metodologia desenvolvida neste trabalho para o desenho de novos derivados antimaláricos.

Palavras-Chave: Novas N-11-azartemisininas. *P. falciparum*. Mapas de *MEP*. Interação ligante-receptor. Reconhecimento de padrões.

1 INTRODUÇÃO

A malária, ou paludismo, é uma doença potencialmente fatal causada por parasitas do gênero *Plasmodium*, transmitida pelo mosquito *Anopheles* fêmea. Em 2017, cerca de 219 milhões de casos de malária ocorreram em todo o mundo, em comparação a 239 milhões de casos em 2010 e 217 milhões de casos em 2016. Como mostrado na figura 1, na Região Africana se concentraram a maioria dos casos (200 milhões ou 92%), seguida pela Região Sudeste da Ásia, com 5% dos casos (WHO, 2018).

Figura 1: Mapa da taxa de incidência de casos de malária (casos por



1.000 habitantes em risco) por país.

Fonte: WHO, 2018

Existem quatro espécies de paludismo humano (*P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale*). O *P. falciparum* é o parasita prevalente na região africana com 99,7% dos casos estimados, no Sudeste Asiático (62,8%), no Mediterrâneo Oriental (69%), Pacífico Ocidental (71,9%). O *P. vivax* predomina na região das Américas, representando 74,1% dos casos de malária. O *P. falciparum* é o mais perigoso, por se multiplicar muito rápido na corrente sanguínea e provocar um quadro de anemia grave (GOMES *et al.*, 2011). Além disso, apresenta propriedades de

citoaderência que favorecem o sequestro do parasita na microcirculação cerebral, podendo levar alguns pacientes ao óbito. Em várias regiões do mundo tem apresentado resistência a compostos antimaláricos de diferentes classes químicas (WHO, 2017).

Ao contrário das outras regiões como o Sudeste Asiático, cuja taxa de incidência da malária reduziu em 59% (de 17 casos da doença por 1.000 habitantes em 2010 para 7 em 2017), as Américas registraram um aumento de incidência, provocado pelo aumento da transmissão no Brasil, Nicarágua e Venezuela. Embora, em alguns países das Américas tenha sido observado um declínio no número de casos de malária, como o caso da Argentina, Paraguai e Costa Rica, que não notificaram nenhum caso em 2015, de acordo com o relatório “Eliminando a Malária” lançado pela OMS em 2016, sete países das Américas (Belize, Costa Rica, Equador, El Salvador, México, Paraguai e Suriname) apresentam potencial para eliminar a malária até 2020 (OPAS/OMS, 2016).

A região amazônica, que engloba municípios de vários países das Américas (Brasil, Peru, Colômbia e Venezuela), foi responsável por quase 50% no aumento dos casos de malária no ano de 2015. O município como Sifontes, na Venezuela, registrou sozinho 16% do total de casos da região. Este fato se deve muito aos distúrbios provocados pela mineração e o abandono social (PAHOA/WHO, 2016).

No Brasil, a Amazônia Legal, que compreende os estados do Pará, Amazonas, Rondônia, Acre e Roraima, responde por cerca de 99,7% do total de casos de malária. Para se entender as razões desse elevado índice da doença na região Amazônica, precisa-se compreender como foi realizada a ocupação dessa área no passado (FERREIRA; CASTRO, 2016).

Em 1964, foi implementada a ditadura militar no Brasil e como parte de uma estratégia geopolítica, o governo federal começou a incentivar a ocupação da Amazônia através de uma série de ações, como a construção de estradas, o que viabilizou o transporte de mercadorias, a criação de gados, os assentamentos agrícolas e o incentivo à mineração. Atraídos por novas oportunidades, muitos imigrantes do sul, sudeste e nordeste do país, que desconheciam a malária, começaram a se assentar

na região. Para se ter uma ideia, de acordo com Censo de 1980, cerca de 1 milhão de imigrantes chegaram aos estados do Pará, Rondônia, Amazonas, Mato Grosso, Amapá, Acre e Roraima em 1970. No entanto, essa ocupação ocorreu de forma desorganizada e praticamente sem nenhum planejamento. Os resultados foram desmatamento sem controle, o que produziu mudanças ambientais expressivas culminando no aumento da malária (MARQUES, 1987).

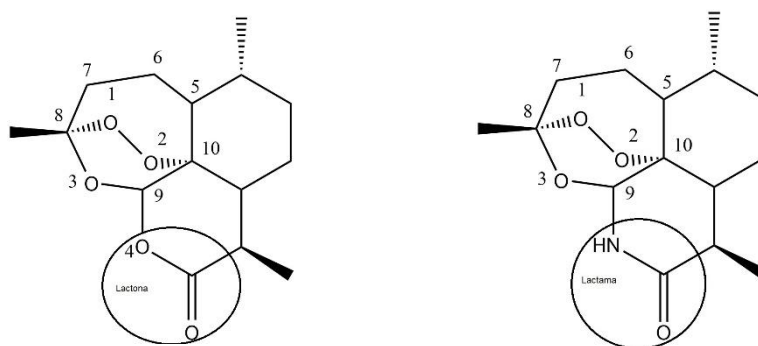
Embora a Malária seja uma doença infecciosa bem antiga, ainda continua gerando graves problemas de saúde pública, ameaçando o seu controle. Uma das principais razões para este fato se refere à capacidade do protozoário *Plasmodium* resistir aos medicamentos descobertos. Em meados do século XVII, a malária era tratada com o composto químico quinina. Apenas em 1946, que o primeiro composto sintético começou a ser utilizado como antimalárico, a cloroquina. Depois, outros fármacos surgiram, como a sulfadoxina-pirimetamina (mefloquina), o altovaquone-proguanil (malarone) e a doxiciclina (WHO, 2017).

Após 1960, ocorreu uma grande incerteza quanto a eficiência no tratamento antimalárico, devido ao surgimento de *Plasmodium* resistente à cloroquina (CQ). Este fato provocou a intensificação de pesquisas por novos fármacos antimaláricos. Foi então, que em 1972, pesquisadores chineses conseguiram, pela primeira vez, isolar em sua forma pura a artemisinina (qinghaosu), extraíndo-a da planta qinghao (*Artemisia annua*) (LI, 2012). A partir da artemisinina, vários derivados começaram a ser sintetizados e, em meados de 1980, iniciou-se sua administração principalmente no tratamento contra o *P. falciparum* resistente à CQ. A artemisinina é um composto químico com alta estabilidade térmica (KLAYMAN, 1985), baixa toxicidade e alta atividade antimalárica (ABADI et al., 1995). Ela é um sesquiterpeno contendo três anéis heterocíclicos, sendo um deles lactona e uma ligação endoperóxido, apontada por vários estudos como uma das principais razões para grande atividade contra o *Plasmodium* (LOBO et al., 2018; RUDRAPAL; CHETIA, 2016; MARTINO et al., 2019).

Dentre os derivados artemisinínicos sintetizados que mostram eficiência no combate ao *P. falciparum*, a 11-azaartemisinina e seus derivados N-substituídos tem chamado atenção de pesquisadores (HARMSE et al., 2017; HARMSE et al., 2015; KUMARI et al., 2019; NISAR et al., 2017), por apresentarem grandes vantagens em relação à artemisinina e a outros derivados já utilizados no tratamento da malária (dihidroartemisinina, artesunato e arthemeter). Esses derivados são facilmente preparados a partir da artemisinina e alguns deles mostram notável estabilidade térmica (HARMSE et al., 2015). Seu composto de partida (11-azaartemisinina) contém unidade de lactama de seis membros diferente da unidade lactona da artemisinina (figura 2).

Figura 2: Estrutura da artemisinina e 11-azaartemisinina.

Fonte: Autor



Quimicamente, a lactama é bem mais estável em condições ácidas ou básicas que a lactona, em virtude de menor deformação do anel e da eletrofilicidade reduzida no átomo de carbono da carbonila, devido a presença do átomo de nitrogênio adjacente, doador de elétrons. São mais estáveis em condições ácidas, como no estômago e no sangue a pH 7,4, mostrando biodisponibilidade superior em relação à artemisinina (BACH; DMITRENKO, 2006; TOROK et al., 1995).

A pesquisa por novos fármacos envolve alto custo financeiro e demasiado tempo, o que resulta em longa espera para o desenvolvimento de drogas eficientes no combate a determinadas doenças. Até a década de 1980, a metodologia utilizada para descoberta de novos medicamentos era a denominada triagem cega, que consistia na execução de testes do tipo “caixa preta” em células ou em modelos animais sem nenhum conhecimento sobre o mecanismo de ação dos fármacos e sua interação

com o receptor (BOSTRÖM *et al.*, 2018). Embora, essa metodologia tenha sido responsável pela descoberta de vários fármacos utilizados atualmente, ela vem se tornando cada vez menos eficiente devido a probabilidade cada vez menor de sucesso.

No entanto, esses problemas podem ser, em parte, resolvidos por meio da utilização dos princípios da ciência da computação em química medicinal para a geração de modelos moleculares. Modelos são representações simplificadas de objetos e fenômenos reais, portanto, entende-se por modelagem molecular a construção, manipulação e representação realística de estruturas moleculares e cálculos de propriedades associadas. A computação possibilita a realização de cálculos complexos em menor tempo e a computação gráfica torna possível o manuseio destes modelos. A Química Teórica fundamenta toda a construção dos modelos e possibilita a interpretação da relação estrutura atividade (SAR) de fármacos.

Para essa finalidade, têm-se usado em larga escala os princípios da química quântica para estudar as drogas e sua interação com os respectivos receptores, sendo importante considerar que tanto as propriedades físicas quanto químicas das moléculas têm origem eletrônica.

Somando-se a esses estudos, têm-se aplicado às substâncias investigadas, métodos de reconhecimento de padrões com a finalidade de encontrar possíveis propriedades moleculares que possam estar diretamente relacionadas à atividade biológica, gerando informações químicas valiosas para a proposição de novas drogas.

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

Planejar novos derivados N-11-azaartemisinina, potencialmente ativos contra malária do tipo *Plasmodium falciparum*.

2.2 Específicos

- a) Otimizar a geometria da artemisinina pelo método DFT utilizando dois conjuntos de bases 6-31G e 6-31G*, a fim de escolher o conjunto de base que gera valores teóricos para os parâmetros geométricos (comprimento de ligação, ângulo de ligação e ângulo de torção) mais próximos aos valores experimentais. A partir da estrutura da artemisinina otimizada, desenhar e otimizar as estruturas dos 19 derivados *N-11-azaartemisinina* estudados por Haynes *et al.*, 2007;
- b) Estudar relação estrutura-atividade dos derivados *N-11-azaartemisinina* (conjunto de treinamento) por meio dos resultados gerados pelos mapas de *MEP*;
- c) Simular as interações entre os dezenove derivados do conjunto de treinamento com o receptor HEME, através da construção de *molecular docking* e correlacioná-los com sua respectiva atividade antimalárica;
- d) Empregar métodos quimiométricos de *PR*: *PCA*, *HCA*, *KNN*, *SIMCA* e *SDA* ao conjunto de treinamento, para identificar as propriedades moleculares que melhor classificam esses derivados em duas classes de compostos: mais ativos e menos ativos;
- e) Com base nos resultados obtidos pelos estudos de mapas de *MEP*, *molecular docking* e métodos quimiométricos dos compostos do conjunto de treinamento, propor novas moléculas *N-11-azaartemisininas*.

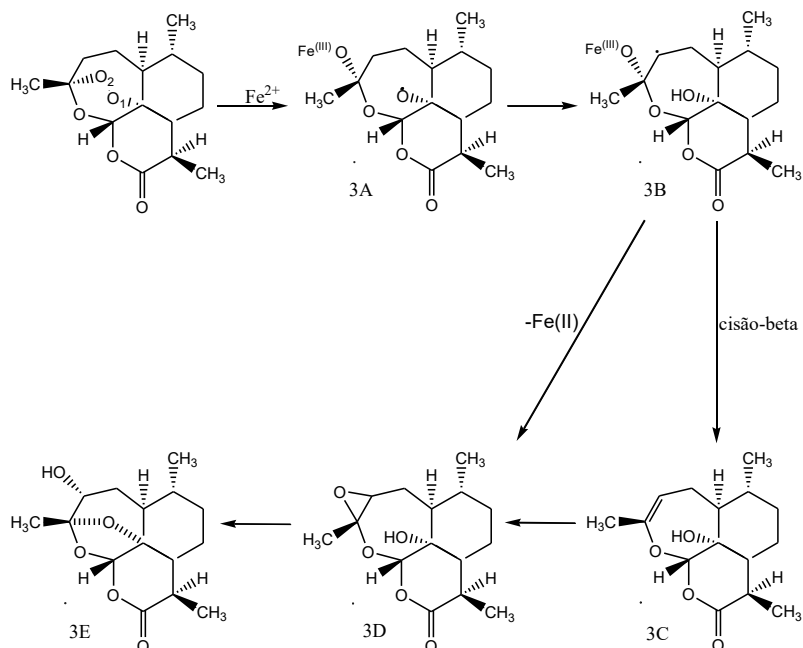
3 MECANISMOS DE AÇÃO DA ARTEMISININA E DERIVADOS

Impulsionados pela compreensão do mecanismo de ação da artemisinina e seus derivados e acreditando que esse entendimento auxilia decisivamente na produção de fármacos antimaláricos mais potentes, diversos estudos se dedicam a detalhar o caminho pelo qual os compostos artemisinínicos percorrem no combate eficiente ao *Plasmodium*. (POSNER *et al.*, 1995; MESHNICK *et al.*, 1996; LI *et al.*, 2006; MEUNIER; ROBERT, 2010). Portanto, neste tópico, fez-se uma abordagem sobre aspectos relacionados às principais proposições de mecanismo de ação desses compostos.

Embora haja grandes divergências nos estudos realizados de proposição do mecanismo de ação da Artemisinina, três afirmações são, em geral, comuns: a essencialidade do grupo endoperóxido na atividade das artemisininas, a presença de Ferro livre ou Ferro-HEME potencializando a atividade antimalarial e a geração de hidroxila no processo metabólico da artemisinina na presença da HEME. Esta última, considera recentes estudos que explicam a eficiência da artemisinina e seus análogos, governada pelo número de radicais hidroxila gerados por uma molécula desses compostos (DENISOV; DENISOVA, 2016; DENISOV; DENISOVA. 2011; DENISOV, 2011; JEFFORD *et al.*, 1996; SOLODOVA *et al.*, 2008; SOLODOVA; DENISOV, 2009).

Segundo as principais proposições, existem, basicamente, dois caminhos pelos quais o ferro da HEME pode acoplar aos compostos artemisinínicos. A figura 3 mostra a proposição de Posner *et al.* (1995), que sugere, inicialmente, o ataque do ferro aos compostos pela posição O₂, produzindo o radical livre na posição O₁ com posterior rearranjo para um radical livre em C₄. O radical (3B) foi sugestionado por ser considerado uma importante espécie química para atividade biológica. O composto 3B é transformado para o composto 3C por uma reação de cisão beta. Subsequentemente, o composto 3C é rearranjado produzindo um composto epóxido (3D). Alternativamente, uma direta formação intramolecular para o radical 3B forma o composto 3D.

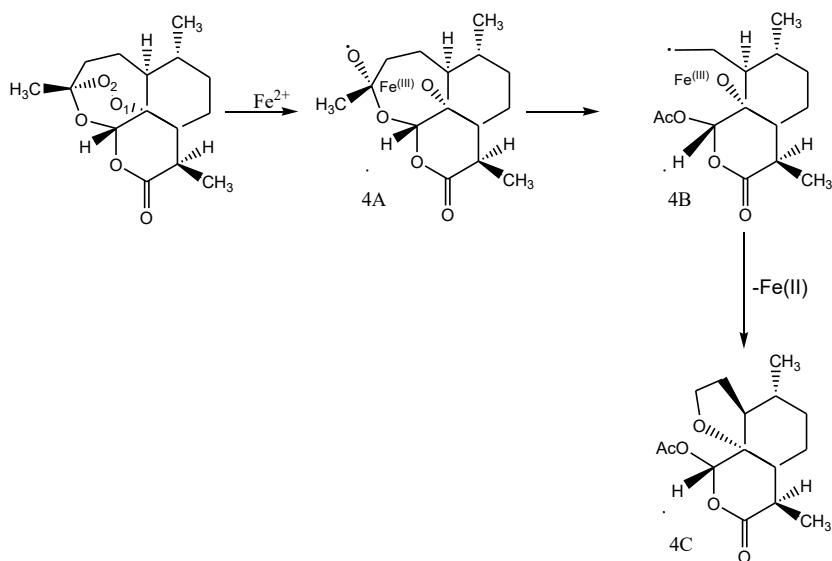
Figura 3. Mecanismo artemisinina e HEME proposto por Posner et al., (1995)



Fonte: Adaptado de Posner *et al.*, 1995

Por outro lado, como mostrado na figura 4, o estudo realizado por Jefford *et al.* (1996) sugere que o ataque do ferro aos compostos ocorre pela posição O₁ e produz um radical livre na posição O₂. Depois que a ligação C₃-C₄ é rompida para dar um radical no carbono C₄ (4B).

Figura 4: Mecanismo de ação artemisinina e HEME proposto por Jefford *et al.* (1996).



Fonte: Adaptado de Jefford *et al.*, 1996

Estudos recentes sobre a eficácia da artemisinina e derivados contra malária mostram que o efeito biológico está associado à capacidade de gerar radicais livres por toda a estrutura da molécula e não apenas a ponte peróxido. Os radicais alcoílas produzidos na clivagem da ligação peróxido entram em uma série de transformações envolvendo oxigênio, resultando na transformação da artemisinina em hidroperóxido poliatômico, gerando novos radicais livres através de grupos enzimáticos com o átomo de Fe²⁺ (SOLODOVA *et al.*, 2008; SOLODOVA; DENISOV, 2009). Outras pesquisas têm mostrado uma correlação entre a potência médica da artemisinina e o número de hidroxilas produzidas ao invés do número total de radicais gerados (DENISOV; DENISOVA, 2011; DENISOV, 2011). Inclusive, Denisov e Denisova (2011) obtiveram uma equação empírica (Equação 1) comparando a atividade antimalárica da artemisinina IC₅₀(A) e seus derivados IC₅₀(i) ao número total de radicais hidroxila gerados pela oxidação (nOH):

$$\ln(\text{IC}_{50}(\text{A}))/(\text{IC}_{50}(\text{i})) = -13,4 + 3,9.n_{\text{OH}} \quad (1)$$

4 METODOLOGIA

Inicialmente, a estrutura da artemisinina retirada do CCDC-691593 (ALLEN, 2002) foi otimizada através do método (DFT/B3LYP) (BERNARDINELLI *et al.*, 1994; JEFFORD *et al.*, 2000) e dos conjuntos de bases 6-31G e 6-31G* (BINKLEY; POPLE; HEHRE, 1980; HEHRE *et al.*, 1976; LEVINE, 2000), disponíveis no programa Gaussian 09 (FRISCH *et al.*, 2009), e comparada com os dados experimentais reportados na literatura (LISGARTEN *et al.* 1999). Sendo selecionado o método/conjunto de base (B3LYP/6-31G) para continuidade ao estudo proposto nesta tese.

A partir da estrutura molecular otimizada da artemisinina, construiu-se as geometrias dos 19 derivados N-11-azaartemisinina (HAYNES *et al.*, 2007), que foram também otimizadas utilizando o método/conjunto de base B3LYP/6-31G.

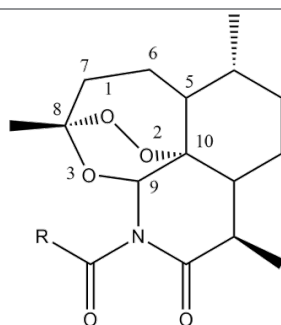
Com os derivados otimizados foram calculados os *MEPs* (BONNACORSI *et al.*, 1970; SCROCCO; TOMASI, 1973; POLITZER; TRUHLAR, 1981) e obtidos os mapas de *MEP* (MOLEKEL, 2009). Subsequentemente, produziu-se *molecular docking* desses derivados com o receptor HEME através do programa Autodock (GOODSELL *et al.*, 1996).

Dando continuidade à metodologia utilizada, com as geometrias otimizadas das N-11-azaartemisininas foram calculadas propriedades moleculares e métodos de *PR* foram utilizados para identificar aquelas propriedades que melhor classificam os derivados em duas classes de compostos: mais ativos e menos ativos.

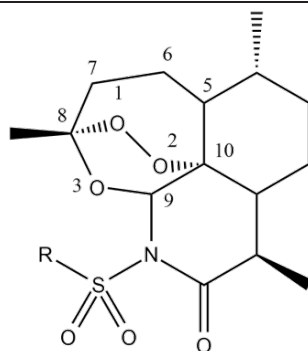
4.1 Derivados N-11-azaartemisinina Estudados

Do trabalho de Haynes *et al.* (2007) foram selecionados 19 derivados N-11-azaartemisinina que constituem o conjunto de treinamento deste estudo. Esses compostos apresentam atividade biológica contra a cepa K-1 do *P. falciparum* resistente à cloroquina (CQ), pirimetamina e cicloguanil. Foram calculadas as atividades relativas para os compostos, $IC_{50R} = IC_{50}$ da artemisinina/ IC_{50} do derivado (NJOGU *et al.*, 2013), onde IC_{50} corresponde a 50% da concentração inibitória. Neste estudo, a seguinte classificação baseada nas respostas antimaláricas foi estabelecida: compostos com $IC_{50R} \geq 0,24$ correspondem aos mais ativos (**1- 8**) e $IC_{50R} < 0,24$ correspondem aos derivados menos ativos (**9-19**). A tabela 1 mostra os derivados N-carbonil e N-sulfonil-11-azaartemisininas substituídos na posição **R** e seus respectivos IC_{50} .

Tabela 1: Derivados N-Carbonil e N-sulfonil-11-azaartemisinina do conjunto de treinamento com seus substituintes e respectivos IC_{50}



Compostos	R	IC_{50}	Atividade antimalárica
1	CH ₃ CH ₂ —	0,90	Mais ativo
2	CH ₃ (CH ₂) ₂ —	0,45	Mais ativo
3	CH ₃ (CH ₂) ₄ —	0,45	Mais ativo
4	4'-O ₂ NC ₆ H ₄ —	1,50	Mais ativo
5	3'-O ₂ NC ₆ H ₄ —	1,50	Mais ativo
6	4'- O ₂ NC ₆ H ₄ NH —	2,25	Mais ativo



Compostos	R	IC ₅₀	Atividade antimalárica
7	CH ₃ —	0,28	Mais ativo
8	CH ₃ CH ₂ —	0,24	Mais ativo
9	— 4'-FC ₆ H ₄ —	0,11	Menos ativo
10	4'-ClC ₆ H ₄ —	0,05	Menos ativo
11	4'-CH ₃ C ₆ H ₄ —	0,02	Menos ativo
12		0,10	Menos ativo
13	4'-O ₂ NC ₆ H ₄ —		
	2'-O ₂ NC ₆ H ₄ —	0,09	Menos ativo
14	3'-N÷CC ₆ H ₄ —	0,02	Menos ativo
15	4'-Cl-3'- O ₂ NC ₆ H ₃ —	0,23	Menos ativo
16	3',4'- (CH ₃ O) ₂ C ₆ H ₃ —	0,02	Menos ativo
17	4'- CH ₃ SO ₂ C ₆ H ₄ —	0,07	Menos ativo
18	4'-C ₆ H ₅ - C ₆ H ₄ —	0,02	Menos ativo
19	5'-Cl-2'-tienil	0,02	Menos ativo

4.2 MEP

Desde o século passado, o *MEP* se destaca como excelente ferramenta no auxílio à modelagem molecular, na compreensão da distribuição eletrônica em estruturas químicas, interação biológica, análise de similaridade molecular, descrição do estado cristalino, solvatação, análise topográfica da estrutura eletrônica de sistemas

complexos e reatividade moleculares em sistemas químicos, principalmente, pelo fato de levar em consideração a capacidade de uma molécula em atrair ou repelir outras moléculas (MATHEW; SURESH, 2011). O MEP pode ser calculado, para qualquer posição \mathbf{r} , pela Equação 2.

$$V_{MEP}(\mathbf{r}) = \sum_k^{\text{nucleo}} \frac{Z_k}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}_k|} - \int \Psi(\mathbf{r}') \frac{1}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} \Psi(\mathbf{r}') d\mathbf{r}' \quad (2)$$

onde k é o número de núcleos com carga Z_k , localizados na posição \mathbf{r} e Ψ é a função de onda. O primeiro termo do lado esquerdo da equação representa a contribuição dos núcleos, que é positiva; o segundo termo refere-se aos efeitos dos elétrons que é negativo. Na investigação dos sítios reativos das N-11-azaartemisínicas como mencionado anteriormente, o *MEP* foi avaliado através do método B3LYP/6-31G (BERNARDINELLI *et al.*, 1994; JEFFORD *et al.*, 2000; HEHRE *et al.*, 1976).

4.3 Molecular Docking

O estudo de *docking* molecular investiga com detalhes o modo de interação de uma molécula (ligante) na região de ligação do bioreceptor, gerando informação importante para compreensão da atividade biológica de determinada droga. Ele possibilita visualizar a maneira como as duas moléculas se aproximam, mas também quantificar a interação. O processo de *docking* começa quando as estruturas ainda não estão ligadas. O ligante busca sua melhor posição no sítio ativo do receptor gerando certo número de poses conformacionais. Há pesquisas sobre algoritmos de busca destinados a resolver o problema de ancoragem ligante-receptor (THOMSEN, 2003).

O reconhecimento molecular ligante-receptor envolve múltiplas etapas de acomodações conformacionais, resultando no modo de interação mais favorável entálpica e entropicamente. Estes processos podem ser estimados pela Equação 3, através da energia livre de ligação

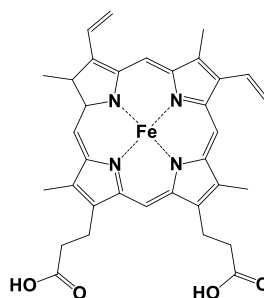
de Gibbs (ΔG), a qual se relaciona à constante de inibição (K_i), esta última pode ser medida experimentalmente. Nesta equação, ΔH é a variação de entalpia, T é a temperatura absoluta, ΔS é a variação de entropia e R a constante universal dos gases.

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S = RT \ln K_i \quad (3)$$

Como mencionado anteriormente, os cálculos de *Molecular docking* foram feitos com o programa Autodock (GOODSELL *et al.*, 1996).

No estudo de *Molecular docking* foi usada a molécula do HEME (figura 5) como receptor da artemisinina e derivados no mecanismo de ação contra *P. falciparum*, cuja geometria foi obtida do *Protein Data Bank (PDB) RCSB*, identificada com o código 1A6M (VOJTECHOVSKY *et al.*, 1999).

Figura 5: Estrutura química 2D do HEME



Fonte: Autor

4.4 Métodos Quimiométricos de Reconhecimento de Padrões

A Quimiometria pode ser definida como a administração e processamento de informações de natureza química. Seu surgimento se liga a necessidade de extrair informações na embaralhada e complexa quantidade de dados multivariados que hoje se consegue gerar com as instrumentações modernas. Na literatura encontra-se muitas aplicações dos métodos quimiométricos, em diversas áreas da Química. Uma das áreas de maior atuação, se concentra nos estudos de Relação Estrutura Atividade (*SAR - Structure Activity Relationships*) em

Química computacional, com enorme utilidade no planejamento de novos fármacos (FERREIRA, 2015).

No geral, as análises quimiométricas pela exploração de dados ocorre a partir de dois métodos matemáticos denominados métodos não supervisionados de reconhecimento de padrões: *PCA* (Beebe; Pell; Seasholtz, 1998) e *HCA* (Gruvaeus; Wainer, 1972; Mccammonr, 1968). Estes dois métodos são conhecidos como métodos de análise exploratória dos dados, pois não se preocupam em construir regras preditivas.

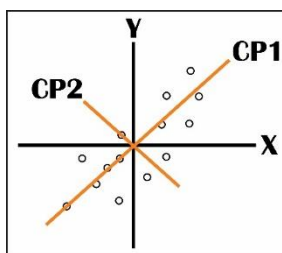
Os métodos supervisionados de reconhecimento de padrões ou métodos de classificação apresentam como objetivo a construção de modelos de classificação. Os principais métodos de classificação são: *KNN*, *SIMCA* e *SDA*.

4.4.1 *PCA*

Em 1901, Karl Pearson descreveu pela primeira vez a *PCA*, porém o tratamento formal desse método de análise exploratória foi concebido por Hotelling e divulgado na década de 1930 (HOTELLING, 1930). O *PCA* consiste na compressão de dados baseado na correlação entre as variáveis, que gera um pequeno conjunto de variáveis denominados componentes principais, projetando dados multivariados em um espaço de dimensão menor. Esta redução da dimensionalidade permite a fácil visualização das informações mais importantes em número menor de fatores, ou componentes principais (FERREIRA, 2015).

O método *PCA* agrupa variáveis altamente correlacionadas em número menor de novas variáveis não correlacionadas chamadas de componentes principais (CP) ou fatores, que são ortogonais entre si produzindo um novo sistema de coordenadas (figura 6). As componentes principais são resultado de combinações lineares das variáveis originais. Esse novo conjunto de variáveis é construído em ordem decrescente da quantidade de variância, ou seja, a primeira componente principal descreve a maior variância nos dados em relação a segunda, e assim por diante (MINGOTI, 2005).

Figura 6: Projeção das componentes principais



Fonte: Autor

As componentes principais geradas pelas combinações lineares das n -variáveis originais podem ser representadas pela Equação 4:

$$PC_j = a_{j1}u_1 + a_{j2}u_2 + \dots + a_{jn}u_n \quad (4)$$

Na equação acima, u_j (para $j=1, 2, \dots, n$) são variáveis originais e a_{jk} (para $k = 1, 2, \dots, n$) são os coeficientes que medem a importância de cada variável na j -ésima componente principal (PC_j), ou seja, o peso que cada variável tem naquela combinação linear.

A análise de componentes principais fornece uma aproximação de uma tabela de dados, a matriz X , em termos do produto de duas pequenas matrizes, T e P' . Estas duas matrizes, T e P' , absorvem os dados essenciais de X . A matriz T expressa a relação entre os escores (derivados N-11-azaartemisina), e são definidos como as coordenadas dos compostos no novo sistema de coordenadas. A matriz P' expressa a relação entre os loadings (descritores moleculares) e indicam a importância (peso) de cada variável original no novo conjunto de variáveis. Esses vetores são escritos usualmente em ordem decrescente de autovalores. Logo, uma análise da *PCA* também estima a estrutura de correlação das variáveis. Nas análises de *PCA* sempre se utiliza as informações produzidas nos dois gráficos, de loadings e escores, havendo a liberdade da exclusão de variáveis para melhorar os resultados. O método *PCA* possibilita visualizar e interpretar as diferenças existentes entre os descritores moleculares estudados e examinar as relações que podem ocorrer entre os derivados do conjunto treinamento (BEEBE *et al.*,

1998).

4.4.2 HCA

A análise de agrupamentos por método hierárquico consiste numa técnica aglomerativa que inicialmente foi desenvolvida por biólogos na tentativa de estudar a semelhança entre organismo de diferentes espécies. Como método não supervisionado de reconhecimento de padrões é adequado para observar, por exemplo, padrões de comportamentos entre um conjunto de substâncias levando em conta seu aspecto multivariado. Portanto, a principal finalidade da *HCA* neste estudo foi reunir os derivados N-11-azartemisina que sejam semelhantes entre si em um mesmo grupo e diferenciá-los de outro grupo, ou seja, maximizar homogeneidade dentro de um grupo e maximizar a heterogeneidade entre os grupos (MANLY, 1986; GRUVAEUS; WAINER, 1972; MCCAMMONR, 1968).

A *HCA* agrupa compostos que pareçam similares entre si, baseando-se em suas proximidades. Os valores de similaridade, S_{kl} , são calculados segundo a Equação 5:

$$S_{kl} = 1 - \frac{d_{kl}}{d_{(max)}} \quad (5)$$

onde d_{kl} é a distância entre os pontos k e l e $d_{(máx.)}$, é a maior distância na matriz distância. Assim, os dois pontos mais distantes no conjunto de dados têm $s=0$ e pontos idênticos apresentam similaridade de 1 (MANLY, 1986).

Como S_{kl} é um elemento de S , d_{max} é a maior distância para qualquer par de compostos N-11-azartemisina num conjunto de dados. d_{kl} é a distância Euclidiana entre os derivados:

$$d_{kl} = [(X_{a1} - X_{b1})^2 + (X_{a2} - X_{b2})^2 + \dots + (X_{an} - X_{bn})^2]^{1/2} \quad (6)$$

onde x_{ij} é um elemento da matriz de dados X .

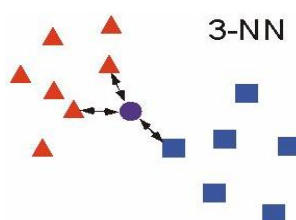
Os principais métodos de agrupamento hierárquicos são: ligação simples (single linkage), ligação completa (complete linkage) média das distâncias (average linkage), Ward, centróide entre outros. A diferença entre os métodos está na elaboração matemática utilizada para formar os agrupamentos. Neste trabalho foi utilizado o método incremental com distâncias euclidianas por meio do software Pirouette (INFOMETRIX, 2011).

4.4.3 KNN

O método *KNN* é um método supervisionado de reconhecimento de padrões não paramétrico e não probabilístico, pois não considera a distribuição da população no espaço amostral. Para a pesquisa a distância entre todas os derivados do conjunto de treinamento no espaço N-dimensional foi calculada utilizando a distância Euclidiana, porém outras distâncias podem ser utilizadas como a Mahalanobis (THOMAS, 1994). Pretendeu-se classificar, inicialmente, os derivados em dois grupos quanto à atividade antimalárica: derivados mais ativos e derivados menos ativos.

Para posterior classificação de novos derivados (conjunto de predição), realiza-se o cálculo da distância desse composto e de todos os derivados do conjunto de treinamento. As substâncias mais próximas são usadas para fazer a classificação, sendo a atribuição a uma determinada classe feita por votos, adotando como critério o grupo de compostos mais próximo. Os K vizinhos mais próximos de cada composto são escolhidos para votar, onde cada substância dá um voto para a sua classe. A classe que receber mais votos ganha o composto. Em caso de empate, a classe com a menor distância acumulada fica com o composto (FERREIRA, 2002). Na figura 7, é exemplificada duas classes (triângulos e quadrados), o círculo representa uma nova molécula, pode-se observar que ao considerar os três vizinhos mais próximos, a nova molécula é classificada no grupo do triângulo.

Figura 7: Método *KNN* para classificação de uma amostra.



Fonte: Autor

4.4.4 *SIMCA*

O *SIMCA* é um método paramétrico ou probabilístico de classificação. Baseia-se num modelo de componentes principais que se ajusta nesta investigação, inicialmente, a cada classe (mais ativos e menos ativos) do conjunto de treinamento, originando um classificador para cada uma delas. Muito diferente do método *KNN*, que é fundamentado apenas nas distâncias entre os compostos.

Definidas as fronteiras de cada classe, verifica-se a existência de superposição entre elas. A distância entre classes e dos resíduos entre classes determina o poder discriminador em distinguir as classes no modelo *SIMCA*. Ao projetar um novo derivado no espaço dos scores e sua distância das fronteiras da classe, obtém-se a atribuição do mesmo a uma dada classe, este procedimento se repete para todas as classes. Se os modelos não apresentarem poder de discriminação razoável, há a possibilidade deste composto aparecer como membro de mais de uma classe. Também pode ocorrer o caso deste derivado não pertencer a nenhuma classe, esta situação indica que a substância em questão é anômala em relação ao conjunto de treinamento (FERREIRA, 2015).

4.4.5 *SDA*

Desenvolvida pelo estatístico R. A. Fisher, em 1930, a *SDA* é um método supervisionado de reconhecimento de padrões aplicado à problemas envolvendo todas as áreas da ciência (JOHNSON; WICHERN, 1992). Este método de análise multivariada foi empregado neste trabalho com dois objetivos principais: (i) separar os derivados N-11-azaartemisina em dois grupos bem definidos (mais/menos ativos); (ii)

alocar novos derivados do conjunto de predição dentro dos grupos previamente definidas (CALAS *et al.* 1997). Pela SDA, obteve-se a função discriminante (FD) por meio da combinação linear dos descritores moleculares escolhidos (SRIVASTAVA; CARTER, 1983).

Na análise discriminante passo a passo (stepwise), os descritores independentes são inseridos, um por vez, na função discriminante, baseado no seu poder discriminante. A aproximação por passo começa escolhendo um único descritor molecular com melhor discriminação. O descritor inicial é então combinado com cada outro descritor independente um por vez, e o descritor capaz de melhorar o poder de discriminação da função é combinado com o primeiro descritor escolhido. O terceiro ou qualquer outro descritor molecular subsequente é selecionado de maneira similar. (HAIR JUNIOR *et al.*, 1995; SHARAF *et al.*, 1986).

O indicativo de uma discriminação significativa é o número mínimo de compostos classificados incorretamente para cada classe (SRIVASTAVA; CARTER 1983). O método SDA é suportado no teste F para estabelecer a significância de variáveis e em cada etapa seleciona uma variável baseada em sua significância, e após várias etapas, as variáveis mais significantes são extraídas do conjunto em questão (JOHNSON; WICHEM, 1992; MARDIA *et al.*, 1979).

Todos os resultados para os métodos quimiométricos empregados nesta pesquisa foram obtidos a partir dos seguintes programas estatísticos: Minitab (versão 17) e Pirouette 3.1.0 (INFOMETRIX, 2001).

4.5 Descritores Moleculares

Os descritores moleculares representam um meio de obter informação química, contida na estrutura molecular das substâncias. Esta informação é transformada e codificada para grande quantidade de problemas químicos, farmacológicos e toxicológicos e em estudos qualitativos da relação entre SAR, sendo este último objeto desta pesquisa.

Os descritores moleculares consideram diferentes aspectos de informação química, podendo ser obtidos através de experimentos, cálculos teóricos ou simples contagem. (TODESCHINI; GRAMATICA, 1998).

Para os cálculos dos descritores moleculares nesta investigação, empregaram-se os seguintes softwares computacionais: Gaussian 98 (FRISCH *et al.*, 1998), HyperChem 6.02 (CHEMPLUS, 2000), Molden (SCHAFTENAAR; NOORDIK, 2000), Autodock 1.5.6 (GOODSELL, MORRIS; OLSON, 1996), Molekel 2009 (VARETTO, 2009). No total foram gerados 57 descritores moleculares.

Os seguintes descritores foram calculados: Parâmetros geométricos: Comprimento de ligação, $d(\text{átomo } k - \text{átomo } i)$, ângulo de ligação (átomo $k - \text{átomo } i - \text{átomo } n$), ângulo de torção (átomo $k - \text{átomo } i - \text{átomo } n - \text{átomo } z$). Descritores eletrônicos: Energia total (E_T), ϵ_{HOMO} (Energia do orbital molecular ocupado mais alto), ϵ_{HOMO-1} (Energia do orbital molecular localizado um nível abaixo do mais alto ocupado), ϵ_{HOMO-2} (Energia do orbital molecular localizado dois níveis abaixo do mais alto ocupado), ϵ_{HOMO-3} (Energia do orbital molecular localizado três níveis abaixo do mais alto ocupado), valor absoluto de ϵ_{LUMO} (Energia do orbital molecular mais baixo desocupado), valor absoluto de ϵ_{LUMO+1} (Energia do orbital molecular localizado um nível acima do mais baixo desocupado), valor absoluto de ϵ_{LUMO+2} (Energia do orbital molecular localizado dois níveis acima do mais baixo desocupado), valor absoluto de ϵ_{LUMO+3} (Energia do orbital molecular localizado três níveis acima do mais baixo desocupado), eletronegatividade de Mulliken's ($\chi = \epsilon_{HOMO} - \epsilon_{LUMO} / 2$), dureza molecular ($\eta = I - AE/2$), onde I é potencial de ionização e AE afinidade eletrônica), moleza molecular ($1/\eta$), definido como o inverso da dureza molecular; momento dipolo (μ), energia GAP ($GAP = \epsilon_{HOMO} - \epsilon_{LUMO}$), carga atômica ($Q_{átomo k}$). Descritores de propriedades físico-químicas: polarizabilidade molecular (Pol , *Molecular Polarizability*), refratividade molecular (MR , *Molecular Refractivity*), energia de hidratação (HE , *hydratation energy*), coeficiente de partição ($LogP$, *partition coefficient*),

valores obtidos por parâmetros hidrofóbicos; TSA e massa molecular (*MM*, *Molecular mass*).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Relação Estrutura-Atividade dos Compostos Estudados

Os derivados N-11-azaartemisinina que constituem os compostos do conjunto de treinamento dessa pesquisa foram retirados do trabalho de Haynes et al. (2007), cujo objetivo era desenvolver derivados de artemisinina com maior estabilidade térmica e não discutir a relação estrutura atividades dessas moléculas. Por isso, resolveu-se fazer uma análise da relação estrutura-atividade das dezenove N-11-azaartemisininas do conjunto de treinamento.

Percebe-se que, em geral, o aumento da cadeia alquílica dos N-carbonil (1-6) e N-sulfonil (7-19) contribui para a diminuição na atividade biológica dos derivados estudados. A partir de 15 carbonos na cadeia a redução na atividade é drástica (HAYNES *et al.*, 2007).

Os derivados N-carbonil 4 e 5, que apresentam substituinte Nitro (-NO₂) ligado em diferentes posições no anel aromático, mostram atividade antimalárica maior que a artemisinina. O derivado **6**, uma aciluréia, é o composto com a maior atividade contra o *P. falciparum* do conjunto de treinamento, cerca de 1,5 vezes mais ativo que a artemisinina. Sua síntese indica uma extensão útil para a metodologia de anexação de grupos polares não-metabolizáveis ao núcleo da artemisinina (Haynes *et al.*, 2006).

Para os derivados N-sulfonil, que apresentam anel aromático monosubstituídos (9, 10, 11, 12, 13 e 14), observa-se que quanto mais eletronegativo o substituinte, maior é a atividade destes derivados, porém, esse aumento não chega a torná-los mais ativos que a artemisinina.

Em relação aos compostos N-sulfonil, cujo anel é disubstituído (15 e 16), apenas o derivado 15 que possui dois substituintes eletronegativos

(Cl e NO₂) mostrou atividade em torno de 11 vezes maior que o composto 16.

Sobre os análogos 12 e 13, cuja única diferença estrutural está na posição do grupo Nitro ligado ao anel, a mudança na posição do grupo não repercutiu significativamente na atividade antimalárica.

Outra análise interessante relacionada à estrutura-atividade ocorre entre os derivados 4 e 12. Ambos, têm o grupo Nitro como substituinte no anel aromático e na mesma posição. No entanto, observa-se uma atividade biológica para 4 (N-carbonil) cerca de 23 vezes maior que em **12** (N-sulfonil).

Os derivados 1 e 8 possuem o mesmo número de carbonos em suas cadeias, contudo nota-se que o composto 1, um N-carbonil, é 4 vezes mais ativo que o derivado 8, um N-sulfonil.

Na comparação, os derivados N-carbonil-11-azaartemisinina são bem mais ativos biologicamente que os derivados N-sulfonil, indicado uma possível contribuição da carbonila dos derivados N-carbonil para a atividade antimalárica.

5.2 Geometrias Otimizadas

A tabela 2 mostra os parâmetros geométricos otimizados (comprimento de ligação, ângulo de ligação e ângulo de torção) e seus respectivos desvios padrões calculados para artemisinina através do método DFT/B3LYP utilizando os dois conjuntos de bases (6-31G e 6-31G*) considerados na pesquisa.

Segundo Hehre *et al.* (1976), modelos quânticos que geram diferenças entre valores experimentais e teóricos da ordem de 10⁻¹ para o comprimento de ligação e 1° para ângulo de ligação e de torção estimam bons resultados.

Ao analisar os valores de desvio padrão para os comprimentos de ligação de ambos os conjuntos de bases calculados, observa-se que todos se encontram abaixo da ordem de 10⁻¹.

Quanto aos desvios relacionados aos ângulos de ligação, todos os valores foram encontrados abaixo de 1° , exceto em duas ocasiões. A primeira delas envolve o ângulo $O_1 - C_8 - O_3$, cujos desvios padrão foram de $1,887^\circ$ ao utilizar conjunto de base 6-31G* e um valor menor de $1,138^\circ$ com conjunto de base 6-31G. A segunda exceção se refere ao ângulo $O_3 - C_9 - C_{10}$ que apresentou desvio padrão maior que 1° apenas com o conjunto de base 6-31G*.

Em relação aos ângulos de torção, destaca-se no geral desvios padrão bem acima de 1° calculados com o conjunto de base 6-31G*, por exemplo, na análise do ângulo de torção $O_1 - C_8 - O_3 - C_9$, percebe-se um desvio de $-3,108^\circ$ em comparação a $-1,014^\circ$ com conjunto de base 6-31G. O ângulo de torção $C_8 - O_3 - C_9 - C_{10}$ também mostrou significativa diferença quanto aos resultados de desvio padrão, com 6-31G*, o valor foi de 2,039, já com o conjunto de base 6-31G o valor calculado de 0,952 ficou abaixo de 1° .

Tabela 2: Parâmetros geométricos teóricos e experimentais da artemisinina

Parâmetros Geométricos ^a	B3LYP/6-31G	B3LYP/6-31G*	Experimental ^b	Δ^c	Δ^d
Comprimento de Ligação (Å)					
C ₁₀ - O ₂	1,499	1,455	1,461	0,038	-0,006
O ₂ - O ₁	1,524	1,460	1,469	0,055	-0,009
O ₁ - C ₈	1,452	1,414	1,416	0,036	-0,004
C ₈ - O ₃	1,473	1,441	1,445	0,028	-0,004
O ₃ - C ₉	1,425	1,396	1,379	0,046	0,017
C ₉ - C ₁₀	1,538	1,539	1,523	0,015	0,016
C ₁₀ - C ₅	1,553	1,555	1,534	0,019	0,021
C ₅ - C ₆	1,552	1,548	1,527	0,025	0,021
C ₆ - C ₇	1,544	1,540	1,520	0,024	0,020
C ₇ - C ₈	1,544	1,547	1,510	0,034	0,037
Ângulo de Ligação (grau)					
C ₁₀ - O ₂ - O ₁	111,407	111,609	111,200	0,207	0,409
O ₂ - O ₁ - C ₈	107,304	108,261	108,100	-0,796	0,161
O ₁ - C ₈ - O ₃	107,738	108,487	106,600	1,138	1,887
C ₈ - O ₃ - C ₉	114,996	114,069	114,200	0,796	-0,131
O ₃ - C ₉ - C ₁₀	113,641	113,264	114,500	-0,859	-1,236
C ₉ - C ₁₀ - O ₂	111,751	111,323	111,700	0,051	-0,377
Ângulo de Torsão (grau)					
C ₁₀ - O ₂ - O ₁ - C ₈	46,883	47,915	47,800	-0,917	0,093
O ₂ - O ₁ - C ₈ - O ₃	-73,464	-73,450	-75,500	2,036	1,550
O ₁ - C ₈ - O ₃ - C ₉	34,986	32,892	36,000	-1,014	-3,108
C ₈ - O ₃ - C ₉ - C ₁₀	26,252	27,351	25,300	0,952	2,039
O ₃ - C ₉ - C ₁₀ - O ₂	-51,202	-51,180	-51,300	0,098	0,120
C ₉ - C ₁₀ - O ₂ - O ₁	12,765	11,671	12,700	0,065	-1,032

^a Os átomos são numerados de acordo com a figura 2.

^b Lisgarten *et al.* 1999.

^c Valores teóricos menos experimentais 6-31G.

^d Valores teóricos menos experimentais 6-31G*.

Diante da análise destes resultados optou-se pelo conjunto de base 6-31G, pois apresentou resultados bem melhores, principalmente, quanto aos valores de ângulos de ligação e ângulo de torção, somado aos desvios abaixo da ordem de 10^{-1} para todos os comprimentos de ligação analisados. Além disso, um importante fator foi considerado nessa escolha, o custo computacional, pois os cálculos realizados utilizando o

conjunto de base 6-31G, ao mesmo tempo que produziram resultados satisfatórios, demandaram um esforço computacional bem menor comparado ao 6-31G*.

Pode-se observar, que importantes parâmetros como o comprimento de ligação $d(O_2 - O_1)$ e o ângulo de torção $C_{10} - O_2 - O_1 - C_8$ cujos os respectivos valores foram 1,524 Å e 46,883°, encontram-se próximos aos valores experimentais de 1,469 Å e 47,800° calculados por Lisgarten *et al.* (1999).

Para os dezenove derivados N-11-azaartemisinina do conjunto de treinamento, os comprimentos de ligação $d(O_1 - O_2)$ variam de 1,519 a 1,524 Å e os ângulos de torção $C_{10} - O_2 - O_1 - C_8$ entre 44,800° e 47,600°. Esses parâmetros encontram proximidade com os valores observados para a artemisinina, constatação corroborada pelo trabalho de Haynes e colaboradores (2007), que após sintetizarem e determinarem a estrutura cristalográfica do N-metilsulfonil-11-azaartemisinina perceberam um valor de 1,471 Å para o comprimento da ligação peróxido $d(O_2 - O_1)$ comparado a 1,469 Å da artemisinina.

Haynes e colaboradores (2007) também evidenciaram uma mudança notável em relação a conformação do anel lactama do N-metilsulfonil-11-azaartemisinina, que foi descrito com uma conformação de barco torcido, em contraste ao anel lactona da artemisinina, que se aproxima de uma conformação de meia cadeira, na qual o grupo carbonila é girado no plano de seus vizinhos de anel. Todos os dezenove derivados *N-11-azaartemisinina* do conjunto de treinamento investigados também apresentaram a conformação barco torcido para o anel lactama.

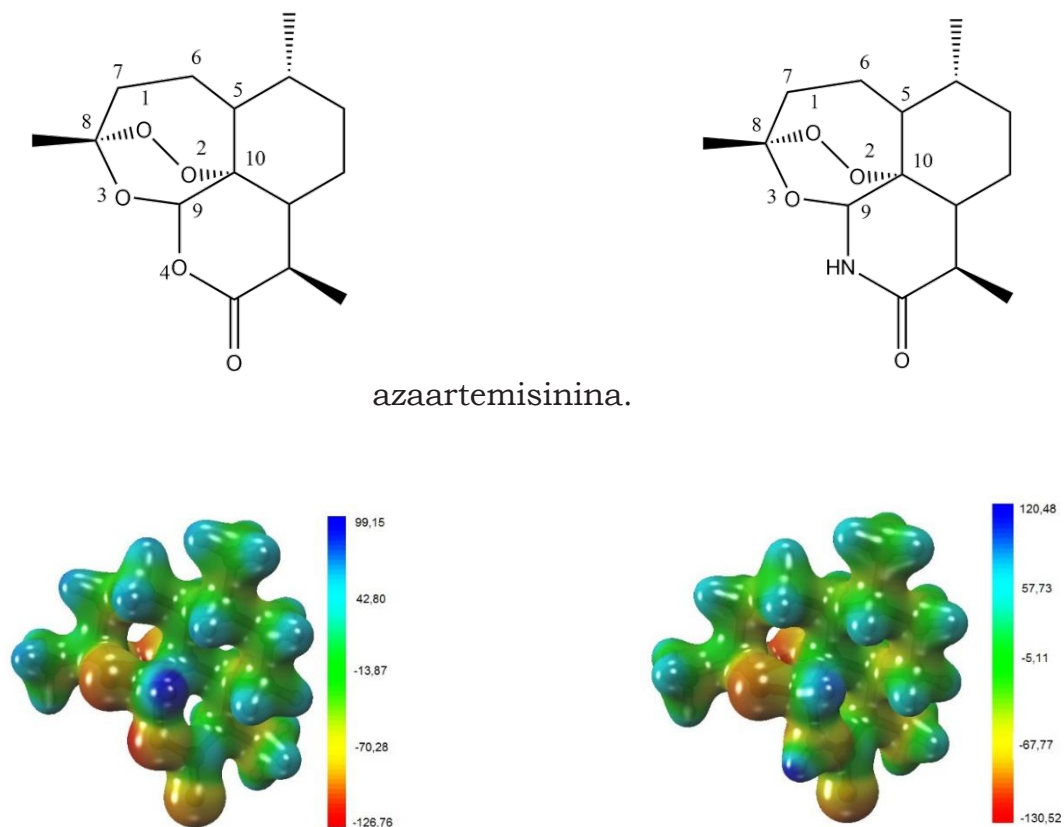
5.3 Mapas de MEP

O estudo do mapa de MEP foi utilizado como ferramenta para investigar as características estruturais-chaves da artemisinina e dos 19 derivados 11-azaartemisinina antimaláricos, explorando com maiores detalhes os efeitos eletrônicos (indutivo e conjugativo) relacionados as

distintas distribuições de cargas nas moléculas, influenciada pela adição dos diferentes grupos substituintes. Em adição, o estudo de mapa de *MEP* possibilitou a identificação de regiões mais sensíveis aos ataques eletrofílicos e/ou nucleofílicos na interação biológica dos derivados com o HEME.

Na figura 8 são mostrados as fórmulas estruturais planas e os respectivos mapas de *MEP* da artemisinina e da 11-azaartemisinina. Percebe-se que o mapa de *MEP* da artemisinina apresentou potencial eletrostático negativo (cor vermelha) em torno dos oxigênios, com destaque aos que formam o anel 1,2,3-trioxano (O_1 , O_2 e O_3). Tal observação é explicada pela presença de pares de elétrons isolados nestes átomos, ocorrendo uma concentração de densidade eletrônica nestas regiões. Também, observa-se a presença de superfície de contorno relacionadas a potenciais positivos (cor azul), cujos maiores valores se encontram em torno de 99,15 Kcal/mol.

Figura 8: Estruturas 2D e mapas de *MEP* da artemisinina e 11-



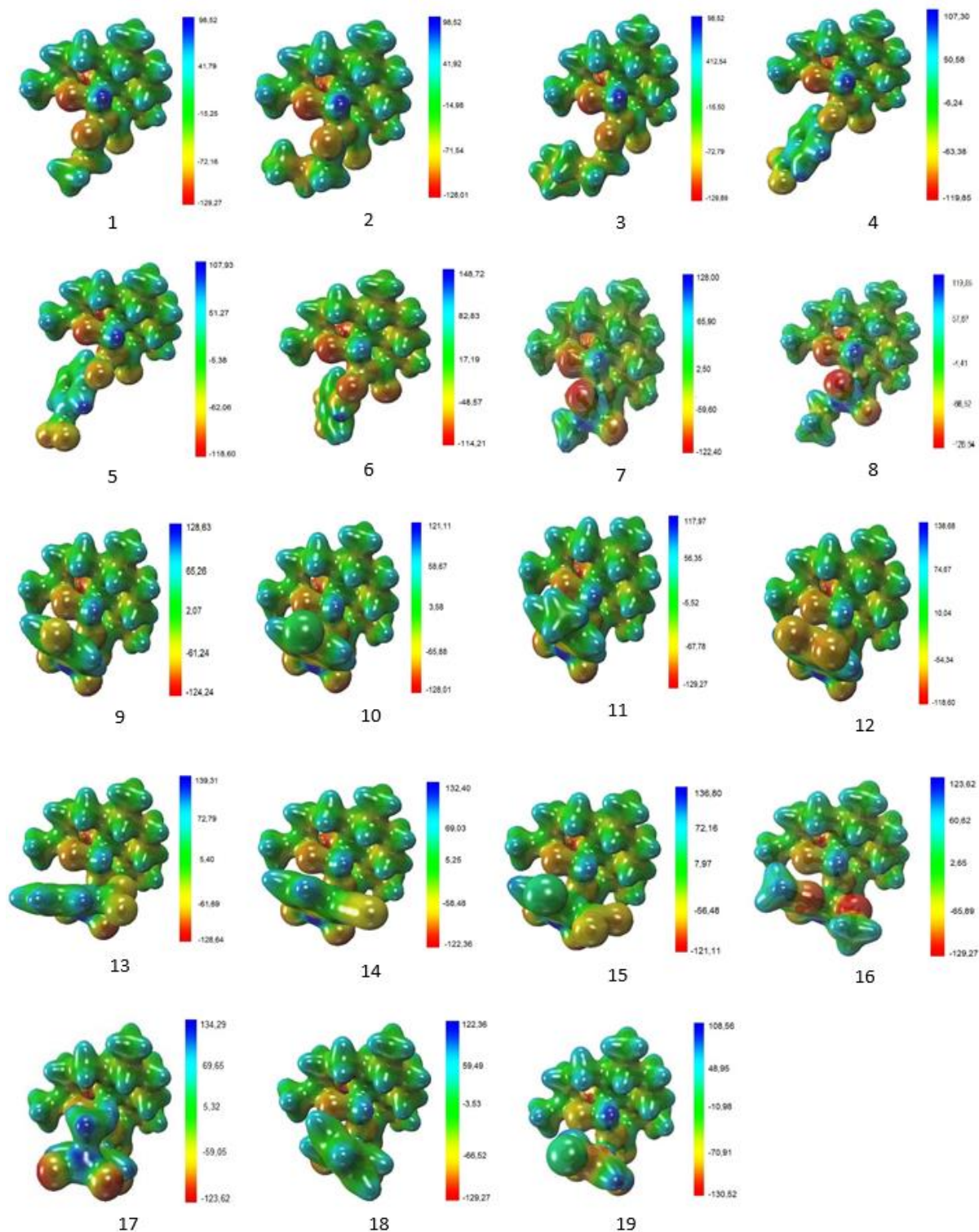
Fonte: Autor

A substituição do átomo O₄ da artemisinina pelo nitrogênio (N) produz o derivado 11-azaartemisinina. Os dois compostos apresentam mesma atividade antimalárica contra a cepa K1 de *P. falciparum* (TOROK *et al.*, 1995). Ao comparar os resultados dos mapas de *MEP* dos dois antimaláricos, constata-se algumas semelhanças. O derivado 11-azaartemisinina mostra um pequeno aumento tanto nos valores de potencial mais negativo (- 130,52 Kcal/mol) quanto de potencial positivo (120,48 Kcal/mol) em relação à artemisinina. E, apesar dessa semelhança quanto a superfície de contornos com potencial negativo em torno do anel 1,2,3 – trioxano, a distribuição de densidade de carga, especificamente, na ligação peróxido apresentou sutis diferenças nos compostos de treinamento, possivelmente provocadas pelos diferentes substituintes utilizados.

A figura 9 mostra os resultados dos mapas de *MEP* das 19 N-11-azaartemisininas do conjunto de treinamento. Nota-se que os potenciais negativos variam de - 130,52 a - 114,21 Kcal/mol e os potenciais positivos entre 98,52 e 146,72 Kcal/mol.

Como mencionado anteriormente, as proposições sobre o mecanismo de ação da artemisinina e seus derivados, consideram a ligação peróxido (grupo farmacóforo) como região de inicial interação destes compostos com o Fe²⁺-HEME (Posner *et al.*, 1995; Jefford *et al.*, 1996; Haynes *et al.*, 2013). Os mapas de *MEP* dos derivados N-11-azaartemisinina mostram a região do grupo endoperóxido com maior densidade eletrônica, o que torna possível uma interação com o íon Fe²⁺, região de maior densidade de carga positiva do HEME. Portanto, os mapas de *MEP* fornecem importantes informações qualitativas sobre características estruturais chave da artemisinina e dos derivados do conjunto de treinamento estudados que possam explicar suas atividades antimaláricas.

Figura 9: Mapas de *MEP* (valores *Kcal/mol*) dos derivados do conjunto de treinamento.



Fonte: Autor

Deve-se destacar importante diferença observada nos mapas de *MEP* dos três compostos mais ativos (4, 5 e 6) do conjunto de treinamento. Para esses compostos a superfície de contorno com o potencial mais negativo está localizada no entorno do átomo O₂ da ligação peróxido, ao contrário da artemisinina, que possui superfície de contorno relacionada a potencial eletrostático mais negativo ao redor do átomo O₁ do endoperóxido.

Um fator essencial para explicar as distinções na distribuição de carga nas moléculas pode estar relacionado aos efeitos eletrônicos provocados pelos diferentes substituintes utilizados. Os dois principais efeitos eletrônicos a considerar são: o efeito indutivo, que se refere a migração eletrônica ao longo da ligação simples, em razão da eletronegatividade; e o efeito conjugativo, relacionado à deslocalização de elétrons π e que se manifesta em compostos com ligações duplas conjugadas. Esses efeitos eletrônicos produzidos pelos diferentes substituintes podem ser analisados qualitativamente através dos mapas *MEP* correlacionando com as atividades antimaláricas dos derivados de treinamento.

De modo geral, as N-sulfonil-azaartemisinina (**7-19**) apresentaram estabilidade térmica bem maior comparada a artemisinina, esse diferente comportamento pode ser explicado pela alta sensibilidade da ponte peróxido ao efeito indutivo negativo (I⁻) provocado por substituintes que retiram elétrons, o que faz aumentar a energia de dissociação homolítica dessa ponte (BORCH, 1968, LIU *et al.*, 1979).

Os grupos N-carbonil e N-sulfonil são considerados bioisósteros, grupos com localização semelhante de regiões de densidade eletrônica elevada ou baixa em moléculas de tamanho e formato semelhantes. Esses dois grupos exercem no anel artemisinínico efeito indutivo negativo (I⁻), ou seja, atraem elétrons fortemente e promovem um efeito conjugativo (ressonância) negativo (- R), diminuindo a densidade eletrônica no sistema conjugado (KOROLKOVAS, 1977). Percebe-se que a substituição em **R** por grupos que exercem efeito indutivo negativo (I⁻) e efeito conjugativo positivo (+ R), ou seja, grupos que atraem elétrons e que

aumentam a densidade eletrônica no sistema conjugado, eleva a atividade antimalárica. Constata-se esse fato tanto nos compostos N-carbonil (4, 5 e 6, os mais ativos do conjunto) quanto nos derivados N-sulfonil (9, 10, 12 e 13).

5.4 Molecular Docking

Estudos de *SAR* que consideram somente a semelhança estrutural entre os compostos têm seus resultados comprometidos, pois não levam em conta relevantes aspectos estereoquímicos, como tamanho, forma, conformações e orientações espaciais dos grupos farmacóforos dos ligantes (BARREIRO; FRAGA, 2014).

O estudo de *molecular docking* foi empregado para o conjunto de treinamento e envolveu a simulação da complexação dos ligantes com o receptor HEME. Os resultados confirmaram a proposição dos mecanismos aceitos e já descritos neste trabalho, que indicam o início da interação a partir da ponte peróxido dos derivados e o íon Fe^{2+} do receptor HEME (POSNER *et al.*, 1995; JEFFORD *et al.*, 1996; HAYNES *et al.*, 2013).

A tabela 3 mostra os resultados obtidos nos estudos de *moleculares dockings* dos 19 derivados do conjunto de treinamento. De acordo com a tabela 3, as distâncias do Fe^{2+} a O_1 $d(\text{Fe}-\text{O}_1)$ e Fe^{2+} a O_2 $d(\text{Fe}-\text{O}_2)$ encontram-se entre 2,50 e 3,81 Å, 2,31 e 2,75 Å, respectivamente para os complexos N-11-azaartemisinina e HEME, $d(\text{Fe}-\text{O}_2)$ é sempre menor que $d(\text{Fe}-\text{O}_1)$ e a diferença (Δ) entre $d(\text{Fe}-\text{O}_2)$ e $d(\text{Fe}-\text{O}_1)$ para os derivados mais ativos, em geral, é maior comparada aos derivados menos ativos. Os valores das energias de interação calculadas variam entre -6,85 e -4,71 Kcal/mol.

Tabela 3: Valores de $d(\text{Fe-O}_1)$, $d(\text{Fe-O}_2)$, Δ e energia de interação do complexo ligante-HEME para o conjunto de treinamento

Compos to	<math>d(\text{Fe- O}_1)^a</math>	<math>d(\text{Fe- O}_2)^a</math>	Δ^c	Energia interação b
1	3,797	2,675	1,05	-4,90
2	3,663	2,592	1,07	-4,79
3	3,832	2,674	1,16	-4,71
4	3,007	2,392	0,62	-6,17
5	3,121	2,370	0,75	-5,52
6	3,161	2,380	0,78	-5,80
7	3,714	2,619	1,10	-5,09
8	3,823	2,609	1,21	-5,96
9	2,630	2,407	0,22	-6,51
10	2,680	2,317	0,36	-6,99
11	2,507	2,371	0,14	-6,85
12	2,585	2,365	0,22	-6,63
13	2,937	2,247	0,69	-6,20
14	3,074	2,371	0,70	-5,41
15	2,613	2,423	0,19	-5,04
16	2,566	2,445	0,12	-6,49
17	2,610	2,442	0,17	-5,04
18	2,560	2,371	0,19	-5,83
19	2,860	2,331	0,53	-6,85

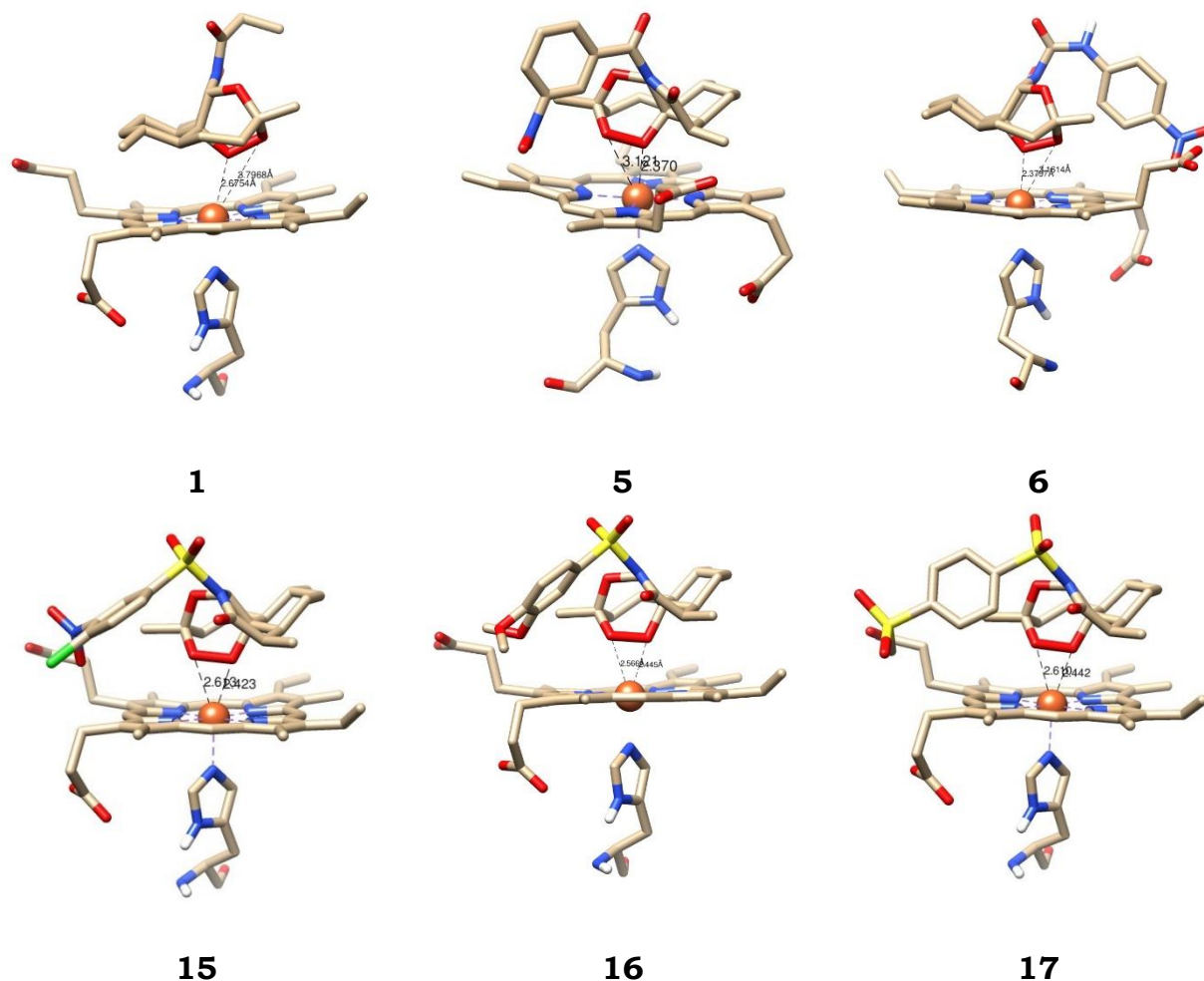
^a Valores em Kcal.mol^{-1}

^b Valores em Å°

^c $\Delta = |d(\text{Fe-O}_1) - d(\text{Fe-O}_2)|$

Na figura 10 são representadas as complexações de 3 derivados ativos e 3 derivados menos ativos com o HEME.

Figura 10: *Molecular docking* entre os 3 derivados N-11-azaartemisina mais potentes (1, 5 e 6) e 3 menos potentes (15, 16 e 17) com o HEME do conjunto de treinamento.



Fonte: Autor

Pela figura 10 percebe-se, nitidamente, a distinção na orientação espacial da ponte peróxido no momento da aproximação para formação do complexo. Os compostos mais ativos (1, 5 e 6) fizeram a aproximação pelo átomo O₂ do endoperóxido, enquanto os menos ativos (15, 16 e 17) formaram o complexo se aproximando de modo quase equidistante em relação aos átomos O₁ e O₂ da ponte peróxido.

5.5 PCA

As duas classes de compostos (mais/menos ativos) melhor separadas foram obtidas quando houve a combinação das seguintes propriedades: ϵ_{LUMO+1} (*one level above the lowest unoccupied molecular orbital*), área superficial total (*TSA*) e a distância entre os átomos de carbono 6 e carbono 5, $d(C_6 - C_5)$. Selecionou-se esses descritores moleculares depois do processo de análise exploratória dos dados. A tabela 4 mostra os descritores escolhidos com seus valores para todos os compostos do conjunto treinamento.

Tabela 4: Matriz de descritores selecionados no PCA do conjunto treinamento com seus respectivos valores

COMPOSTOS	ϵ_{LUMO+1}^a	$d(C_6-C_5)^b$	<i>TSA</i> ^c	IC _{50R} ^d
1	19,1516	1,5500	526,0700	0,90
2	20,4380	1,5508	529,2100	0,45
3	20,4380	1,5512	610,1400	0,45
4	39,0123	1,5511	604,4000	1,50
5	49,5168	1,5511	602,9300	1,50
6	30,8986	1,5505	618,3800	2,25
7	23,1802	1,5511	513,3200	0,28
8	22,5715	1,5508	541,6200	0,24
9	32,4547	1,5532	585,3000	0,11
10	36,7532	1,5530	605,2300	0,05
11	27,5539	1,5531	608,2100	0,02
12	56,0992	1,5531	613,5100	0,10
13	55,1330	1,5533	592,8800	0,09
14	48,9457	1,5527	611,0300	0,02
15	60,2159	1,5533	630,9300	0,24
16	23,5504	1,5533	663,4500	0,02
17	48,8579	1,5531	649,0900	0,07
18	35,9877	1,5533	687,0300	0,02
19	46,2600	1,5532	599,2600	0,02

^a Valores em Kcal/mol

^b Valores em Å

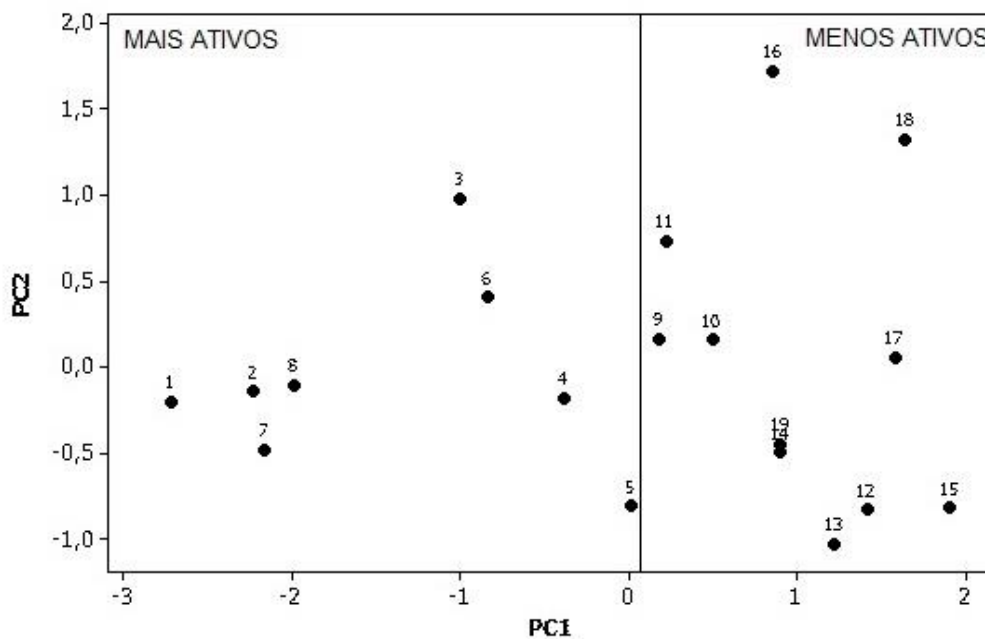
^c Valores em Å²

^d IC₅₀ da artemisinina/IC₅₀ do derivado, onde IC₅₀ corresponde a 50% da concentração inibitória, onde IC_{50R} ≥ 0,24 correspondem aos derivados mais ativos e IC_{50R} < 0,24 correspondem aos derivados menos ativos.

A análise desta tabela mostra que, de modo geral, os derivados mais ativos apresentam valores mais baixos para ε_{LUMO+1} e menores valores para $d(C_6 - C_5)$ e TSA comparado aos menos ativos ($IC_{50} < 0,24$).

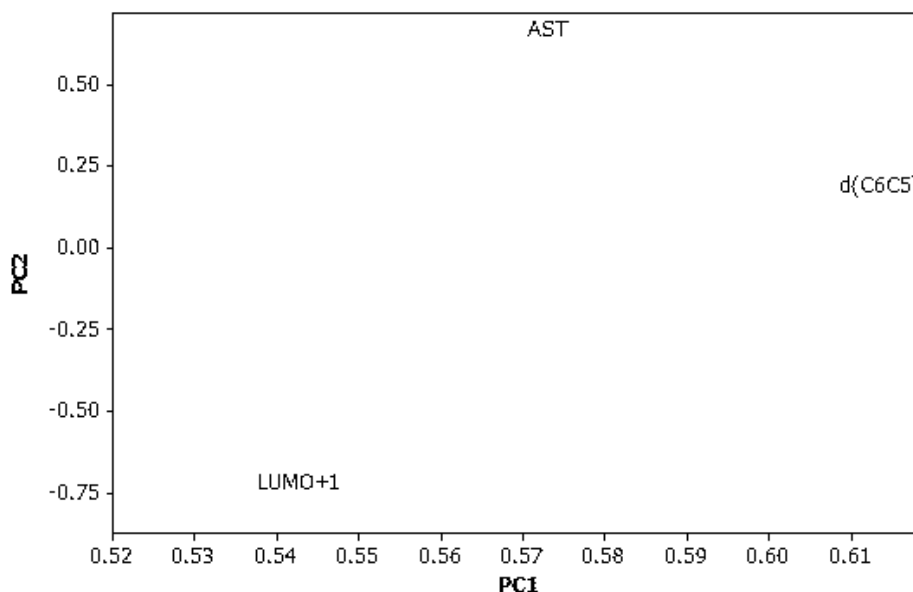
As figuras 11 e 12 mostram os gráficos de scores e loadings gerados pela PCA separando os derivados do conjunto treinamento em dois grupos distintos: mais ativos e menos ativos.

Figura 11: Gráfico dos scores para os compostos de 1 a 19 usando os descritores ε_{LUMO+1} , $d(C_6 - C_5)$ e TSA . À esquerda, compostos mais potentes (1-8), à direita compostos menos potentes (9-19).



Fonte: Autor

Figura 12: Gráfico dos loadings utilizados na PCA.



Fonte: Autor

Na figura 11 as componentes principais PC1 e PC2 explicaram 89% da informação total. O gráfico de scores mostra que PC1 é responsável pela separação dos compostos do conjunto treinamento deslocando os compostos mais ativos (1-8) para o lado esquerdo e os menos ativos (9-19) para o lado direito da figura.

O gráfico dos loadings (figura 12) mostra a ε_{LUMO+1} deslocando os derivados mais ativos para o lado esquerdo da figura e $d(C_6-C_5)$ e TSA deslocando os compostos menos ativos para o lado direito dessa figura.

Na tabela 5 é mostrada a matriz de pesos para os descritores selecionados. De acordo com essa tabela, é possível classificar os derivados em mais ou menos ativos por meio da equação 6. Compostos classificados como mais ativos resultam da combinação de valores mais baixos para ε_{LUMO+1} e menores valores para $d(C_6-C_5)$ e TSA .

$$PC1 = 0,543 \varepsilon_{LUMO+1} + 0,614 d(C_6 - C_5) + 0,573 TSA \quad (6)$$

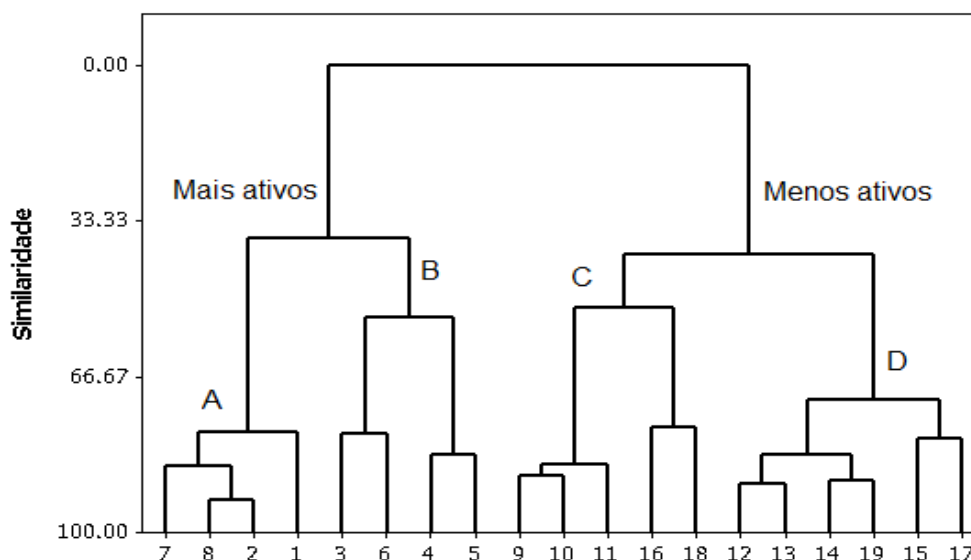
Tabela 5: Pesos de cada descritor selecionado para PC1, PC2 e PC3

Variável	PC1	PC2	PC3
ϵ_{LUMO+1}	0.543	-0.785	-0.298
$d(C_6 - C_5)$	0.614	0.129	0.779
TSA	0.573	0.606	-0.552
VARIÂNCIA	70%	19%	11%

5.6 HCA

A figura 13 mostra o dendrograma obtido com o HCA para os compostos do conjunto de treinamento. O método utilizado foi o *incremental* e a distância *Euclidiana*.

Figura 13: Dendrograma para os derivados do conjunto de treinamento (1-19).



Fonte: Autor

Segundo o dendrograma, os compostos foram distribuídos em dois grupos principais. O grupo da esquerda, corresponde aos mais ativos (**1-8**) do conjunto de treinamento, é dividido em dois subgrupos: A e B. O

subgrupo A constitui-se de derivados N-carbonil e N-sulfonil com substituintes alquílicos de um a três carbonos na posição **R**. O aumento do número de carbonos na cadeia produziu uma diminuição na atividade biológica. Na classe dos mais ativos ($IC_{50} \geq 0,24$) esses compostos não se encontram entre os mais eficientes contra a malária e apresentam menores áreas superficiais e distâncias entre C_6 e C_5 e valores mais baixos para ϵ_{LUMO+1} . O subgrupo B é formado pelos derivados com maiores valores de IC_{50} da classe dos mais ativos. Estruturalmente, todos possuem como substituintes em **R** um anel aromático (4,5 e 6), exceto o derivado 3, que apresenta uma cadeia alquílica com 5 carbonos, sendo a maior cadeia alifática de todo o conjunto de treinamento. Os compostos 4 e 5 são N-carbonil cuja única diferença entre eles está na posição do grupo nitro ligado ao anel aromático em **R**. No grupo dos mais ativos mostram os maiores valores de área superficial total, porém, no geral, não se comparam aos valores bem maiores de *TSA* na classe dos menos ativos.

O grupo dos menos ativos contém 2 subgrupos: C e D. Todos os derivados do subgrupo C (**9,10 e 11**) são N-sulfonil que têm em **R** anel aromático monosubstituído na posição 4, diferenciando-se apenas nos substituintes utilizados, Flúor (F), Cloro (Cl) e metil (Me), respectivamente. Na comparação com um dos compostos mais ativos (4) que é um N-carbonil com mesma substituição em **R** por anel aromático monosubstituído na posição 4, porém com um diferente substituinte (nitro), percebe-se um grande aumento na atividade biológica, confirmando como já discutido no trabalho que os N-carbonil apresentam melhores resultados como antimaláricos e sugestionando que a presença do grupo nitro também contribui para esse melhor desempenho. Todos são derivados que apresentam as maiores áreas superficiais totais do conjunto treinamento.

No subgrupo D, representado por substâncias com menor potência biológica, observa-se que todos são derivados N-sulfonil com mono (12, 13 e 14), dissubstituição (15 e 16) no anel aromático, dois anéis isolados (18) e o 5-Cloro-thienil (19) em **R**. Comparando o IC_{50} dos compostos 12

(0,10) e 13 (0,09) que distinguem-se apenas pela posição do grupo nitro no anel aromático, nota-se uma boa relação entre eles de 1,1. No entanto, esse valores de IC_{50} são muito menores quando comparados ao derivado 4 (grupo mais ativo), que possui o mesmo substituinte em **12**, porém é um N-carbonil. Esses compostos mostram os mais altos valores para ϵ_{LUMO+1} e os maiores valores para $d(C_6 - C_5)$ do conjunto de treinamento. Os resultados observados neste subgrupo apontam que para o desenho de derivados N-sulfonil mais ativos contra o *P. falciparum* o caminho seja a escolha de substituintes em **R** com cadeias alifáticas ao invés de cadeias cíclicas ou aromáticas.

5.7 KNN

Para uma validação inicial, utilizou-se o método *KNN* com as mesmas variáveis (ϵ_{LUMO+1} , $d(C_6-C_5)$ e *TSA*) que pelo *PCA* e *HCA* separaram os derivados N-11-azaartemisina do conjunto de treinamento em dois grupos: mais ativos e menos ativos contra o *Plasmodium falciparum*.

Na tabela 6 são mostrados os resultados da classificação com o método *KNN*. As informações corretas foram de 100% para 1 *KNN*, 2 *KNN*, 3 *KNN* e 4 *KNN*, ou seja, todos os derivados foram classificados corretamente dentro das classes previstas, indicando que os modelos (1 *KNN*, 2 *KNN*, 3 *KNN* e 4 *KNN*) construídos a partir dos descritores selecionados oferecem boa capacidade preditiva. Para escolha do modelo *KNN*, optou-se por seguir a proposição de Ferreira (2015) que considera valores razoáveis para *K* entre 3 e 5. Neste trabalho de acordo com essa proposição, construiu-se o modelo com 4 vizinhos mais próximos.

Tabela 6: Classificação do conjunto de treinamento com o método *KNN*

Categoria	Número de Compostos	Compostos Classificados Incorretamente			
		1KNN	2KNN	3KNN	4KNN
Mais Ativos	08	0	0	0	0
Menos ativos	11	0	0	0	0
Total	19	0	0	0	0
% Informação Correta		100	100	100	100

5.8 SIMCA

Aplicou-se o *SIMCA* aos derivados do conjunto treinamento estudado, utilizando-se os mesmos descritores selecionados em *PCA*, *HCA* e *KNN* e 3 PCs na construção das duas classes: mais ativos (1- 8) e menos ativos (9 -19).

A tabela 7 mostra a matrix de classificação obtida pelo método *SIMCA*. Nesta tabela a porcentagem de informação foi também 100%. Além disso, o modelo *SIMCA* mostra um bom poder discriminante, ou seja, altas distâncias e altos resíduos entre as classes.

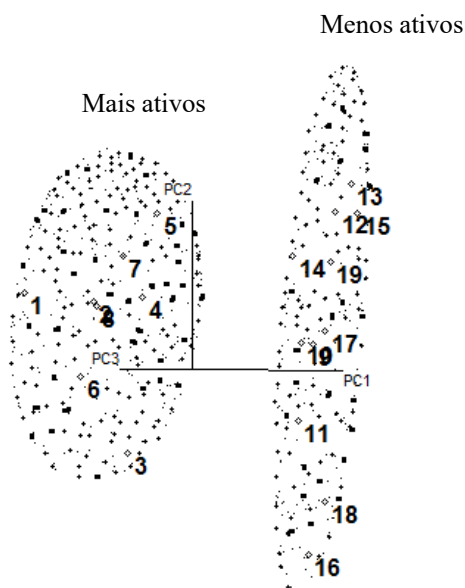
Tabela 7. Matriz de classificação obtida com método *SIMCA*

CATEGORIA	NÚMEROS DE COMPOSTOS	CLASSIFICAÇÃO <i>SIMCA</i>
MAIS ATIVOS	08	08
MENOS ATIVOS	11	11
TOTAL	19	19
% INFORMAÇÃO CORRETA		100

Ainda há a possibilidade de se analisar os arranjos gerados pela *SIMCA* em um gráfico 3D como mostrado na figura 14. Percebe-se

nitidamente a discriminação das classes em dois grupos: mais ativos e menos ativos.

Figura 14: Gráfico 3D dos scores em PC1xPC2xPC3 obtido pelo SIMCA



Fonte: Autor

5.9 SDA

Neste trabalho, a aplicação da técnica *SDA* permitiu a obtenção de funções discriminantes para os grupos dos compostos mais ativos e menos ativos, respectivamente expressos pelas equações 7 e 8:

$$\text{GRUPO MAIS ATIVO} = -0,063 \varepsilon_{LUMO+1} - 19,401 d(C_6 - C_5) + 0,749 \text{ TSA} - 10,519 \quad (7)$$

$$\text{GRUPO MENOS ATIVO} = 0,046 \varepsilon_{LUMO+1} + 14,110 d(C_6 - C_5) - 0,545 \text{ TSA} - 5,564 \quad (8)$$

De posse das funções discriminantes e dos valores de cada variável dos derivados, foi obtida uma matriz de classificação usando todos os compostos do conjunto de treinamento.

Na tabela 8 é mostrada a matriz de classificação dos derivados estudados. A tabela mostra porcentagem de acerto de classificação igual a 100%, que significa uma ótima separação dos compostos mais ativos e menos ativos.

Tabela 8: Matriz de classificação dos compostos do conjunto treinamento com SDA

CATEGORIA	NÚMEROS DE COMPOSTOS	CLASSIFICAÇÃO CORRETA	
		MAIS ATIVOS	MENOS ATIVOS
MAIS ATIVOS	08	08	0
MENOS ATIVOS	11	0	11
TOTAL	19	08	11
% INFORMAÇÃO CORRETA		100	100

A fim de determinar a confiabilidade do modelo gerado pela SDA, foi utilizado um teste de validação cruzada, a técnica “*leave-one-out*”, que consiste em deixar um derivado do conjunto de fora. As funções de discriminação são construídas com os derivados restante. Depois, o composto omitido é classificado com as funções produzidas, repetindo esse teste até o último derivado ser omitido.

A tabela 9 apresenta os resultados do teste de validação cruzada. Nota-se que as predições foram 100% corretas, indicando a validade das funções discriminantes geradas pelo modelo. Do modelo SDA, uma regra de alocação foi estabelecida quando novos derivados N-11-azaartemisina com atividade antimalárica forem investigados: (a) calcular, inicialmente, para o novo derivado, o valor dos descritores mais importantes obtidos na construção do modelo, (b) considerar os valores auto escalados desses descritores moleculares nas funções discriminantes obtidas nesse trabalho, e (c) verificar qual função discriminante apresentam o valor mais alto. A nova N-11-azaartemisina é mais ativa se estiver relacionada às funções discriminantes do grupo mais ativo e vice-versa.

Tabela 9: Matriz de classificação utilizando SDA com *Cross-Validation*

CATEGORIA	NÚMEROS DE COMPOSTOS	CLASSIFICAÇÃO CORRETA	
		MAIS ATIVOS	MENOS ATIVOS
MAIS ATIVOS	08	08	0
MENOS ATIVOS	11	0	11
TOTAL	19	08	11
% INFORMAÇÃO CORRETA		100	100

Baseado nessa compreensão, pretende-se agora discutir alguns pontos relevantes sobre cada uma dessas variáveis e suas relações com o grupo dos derivados mais ativos.

Como mencionado anteriormente, ϵ_{LUMO+1} indica a energia do orbital molecular localizado um nível acima do orbital mais baixo desocupado. Em uma interação ligante-receptor passa a ser uma importante propriedade, pois aborda informações valiosas sobre aspectos eletrônicos envolvidos na interação das N-11-azartemisininas e o bioreceptor HEME.

Ao se considerar os possíveis mecanismos de ação dos derivados artemisinínicos estudados, que apontam para uma inicial interação entre a ligação peróxido das N-11-azartemisininas e o Fe^{2+} -HEME, por meio de uma transferência de elétrons do Fe-HEME para o grupo endoperóxido dos derivados, permite-se propor que essa interação possa envolver o orbital HOMO do Fe^{2+} -HEME e o orbital LUMO+1 dos derivados investigados. Uma explicação para esta interação pode decorrer da possibilidade de em algum momento, em consequência do meio biológico, a ϵ_{LUMO+1} tornar-se menor que a energia do ϵ_{LUMO} . Na tabela 4 pode ser observado que, em geral, as N-11-azaartemisininas mais ativas apresentam valores de ϵ_{LUMO+1} menores que aqueles das N-11-azartemisininas menos ativas. Este é um indicativo de que os derivados mais ativos têm uma grande probabilidade de interagir com o HEME através de um mecanismo de transferência de carga.

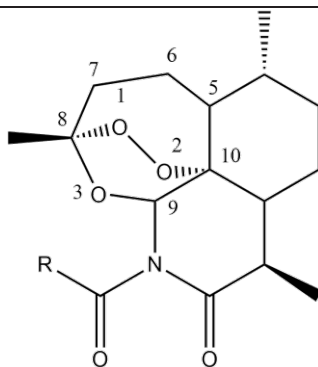
O comprimento de ligação, por ser um parâmetro geométrico, tem relação direta com as cargas e disponibilidade estérica dos átomos

envolvidos na ligação (TODESCHINI *et al.*, 2000). Neste estudo foram encontrados menores valores para o comprimento de ligação entre os átomos C₆ e C₅ nos derivados mais ativos do conjunto treinamento. Devido esse comprimento de ligação fazer parte do anel artemisinínico, é possível considerar que o encurtamento de $d(C_6-C_5)$ provocou alteração em todo o anel, inclusive na ligação peróxido $d(O_2-O_1)$, principal região de interação das N-11-azartemisininas com o receptor HEME. De acordo com a tabela 4, as N-11-azartemisininas mais ativas apresentam valores $d(C_6-C_5)$ mais baixos. Isto pode ser visto, em geral, como uma indicação da importância das propriedades estéricas dos derivados mais ativos em seu possível mecanismo de ação.

O descritor molecular área superficial total (*TSA*) acessível por solvente de uma molécula foi calculado através do método descrito por Bodor *et al.*, (1989). Este método é mais preciso e leva em consideração os raios atômicos de Gavezzotti (1983). Os compostos mais potentes do conjunto treinamento mostraram menores áreas superficiais e com número maior de regiões hidrofílicas, fatores que podem influenciar diretamente na atividade observada para esses compostos, principalmente, devido a enorme complexidade dos sistemas biológicos e os vários fenômenos que ocorrem desde a introdução destes derivados no organismo até sua interação com o HEME (KOROLKOVAS, 1977) Como identificado na tabela 4, as moléculas N-11-azartemisininas reportadas como mais ativas exibem mais baixos valores de *TSA*. Esta é uma indicação que em processos envolvendo os compostos N-11-azartemisinina e o HEME, as interações hidrofílicas podem ser importantes no mecanismo de ação desses derivados.

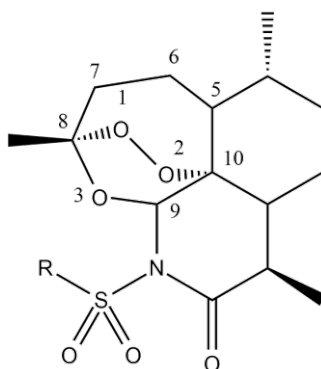
Fundamentado nos resultados gerados pelos estudos dos mapas de *MEP*, *molecular docking*, métodos *PR* e utilizando a intuição química, foi possível propor dezesseis novas N-11-azartemisininas (conjunto de predição) potencialmente ativas contra o *P. falciparum*. Na tabela 10 é mostrada as dezesseis novas N-11-azartemisininas do conjunto de predição.

Tabela 10: Estrutura das dezesseis novas N-11-azaartemisinas propostas do conjunto predição



Compostos	R
20	4'-HOCC ₆ H ₄ NH—
21	4'-NCC ₆ H ₄ NH—
22	4'-F ₃ CC ₆ H ₄ NH—
23	4'-HOCC ₆ H ₄ NH—
24	4'-HOCC ₆ H ₄ —
25	4'-H ₂ NOCC ₆ H ₄ —
26	4'-HOCC ₆ H ₄ —

Tabela 10: Estrutura das dezesseis novas N-11-azaartemisininas propostas do conjunto predição.
(continuação)



Compostos	R
27	3'-HOCC ₆ H ₄ —
28	α-O ₂ NC ₁₀ H ₆ —
29	α-HOCC ₁₀ H ₆ —
30	α-HOCC ₁₀ H ₆ —
31	HOCCHCHCH ₂ —
32	HOCCHCH—
33	HOCNHCHCH—
34	CH ₃ COOCHCH—
35	HOCCHCHNH—

A tabela 11 mostra a aplicação dos modelos *PCA*, *HCA*, *KNN*, *SIMCA* e *SDA* ao conjunto de predição. Nesta tabela os novos compostos **20 – 26** e **31 – 35** foram classificados como mais ativos por todos os modelos. Os compostos **27** e **30** foram classificados como menos ativos por todos os modelos e os derivados **28** e **29** foram classificados como mais ativos pelo modelo *KNN* e menos ativos pelos modelos *PCA*, *HCA* e *SDA*, não sendo possível uma classificação pelo modelo *SIMCA*. Podemos inferir que os resultados da aplicação dos modelos *PR* ao conjunto de predição evidenciam doze novas moléculas (**20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 31, 32, 33, 34** e **35**) como os mais promissores para futuras sínteses e ensaios biológicos, que poderão validar a metodologia proposta nesta pesquisa

para o desenho dessas novas N-11-azartemisininas com atividade contra *P. falciparum*.

Tabela 11: Resultados da aplicação dos modelos *PR* ao conjunto de predição

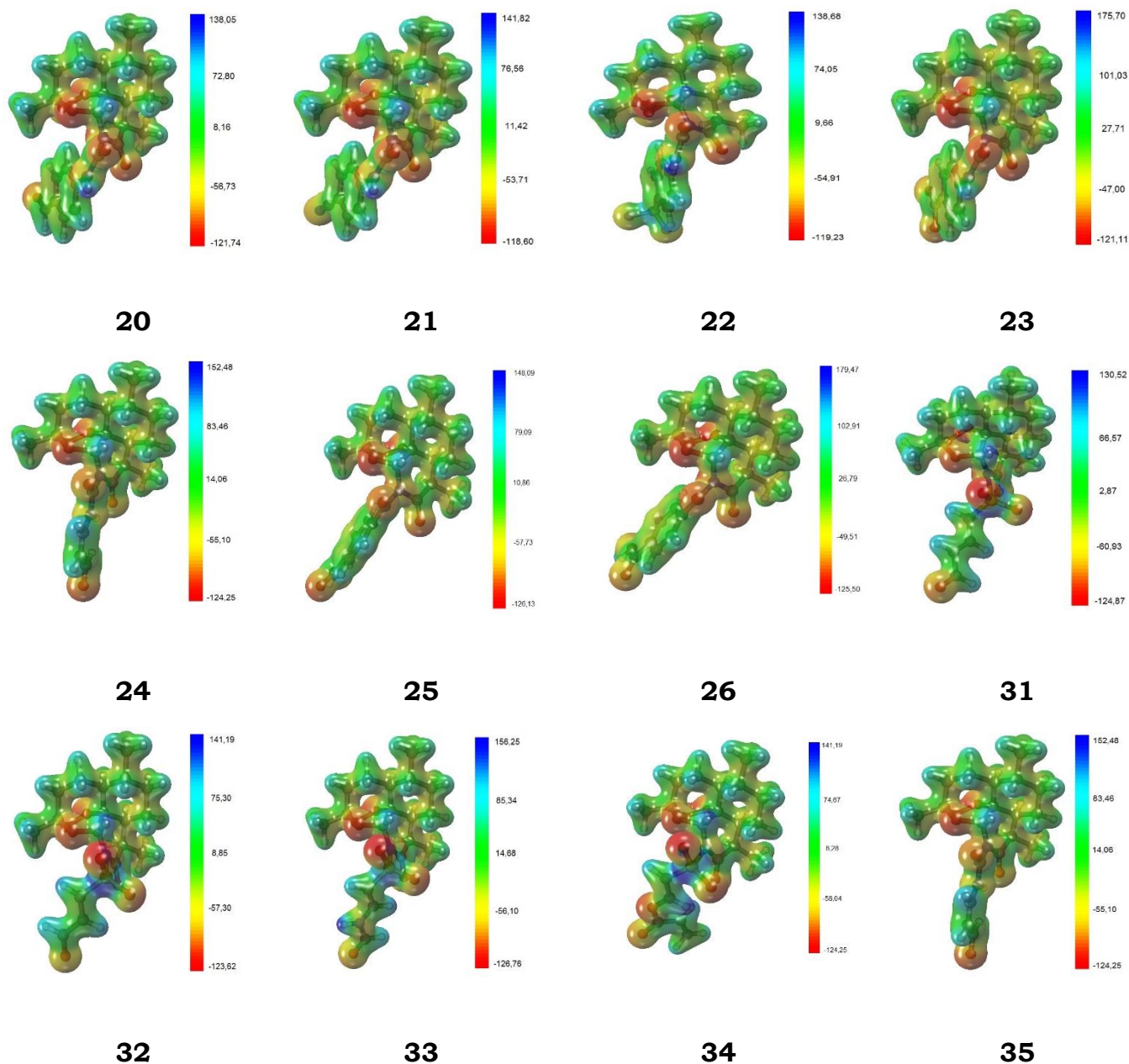
Compostos	<i>KNN</i>				
	<i>PCA</i>	<i>HCA</i>		<i>SIMCA</i>	<i>SDA</i>
20	+	+	+	+	+
21	+	+	+	+	+
22	+	+	+	+	+
23	+	+	+	+	+
24	+	+	+	+	+
25	+	+	+	+	+
26	+	+	+	+	+
27	-	-	-	-	-
28	-	-	+	0	-
29	-	-	+	0	-
30	-	-	-	-	-
31	+	+	+	+	+
32	+	+	+	+	+
33	+	+	+	+	+
34	+	+	+	+	+
35	+	+	+	+	+

* (+) derivados N-11-azartemisininas ativos

* (-) derivados N-11-azartemisininas inativos

A figura 15 mostra os mapas de *MEP* dos doze compostos classificados como ativos pelos modelos *PR*.

Figura 15: Mapas de *MEP* das doze N-11-azartemisininas mais promissoras de acordo os modelos *PR*.



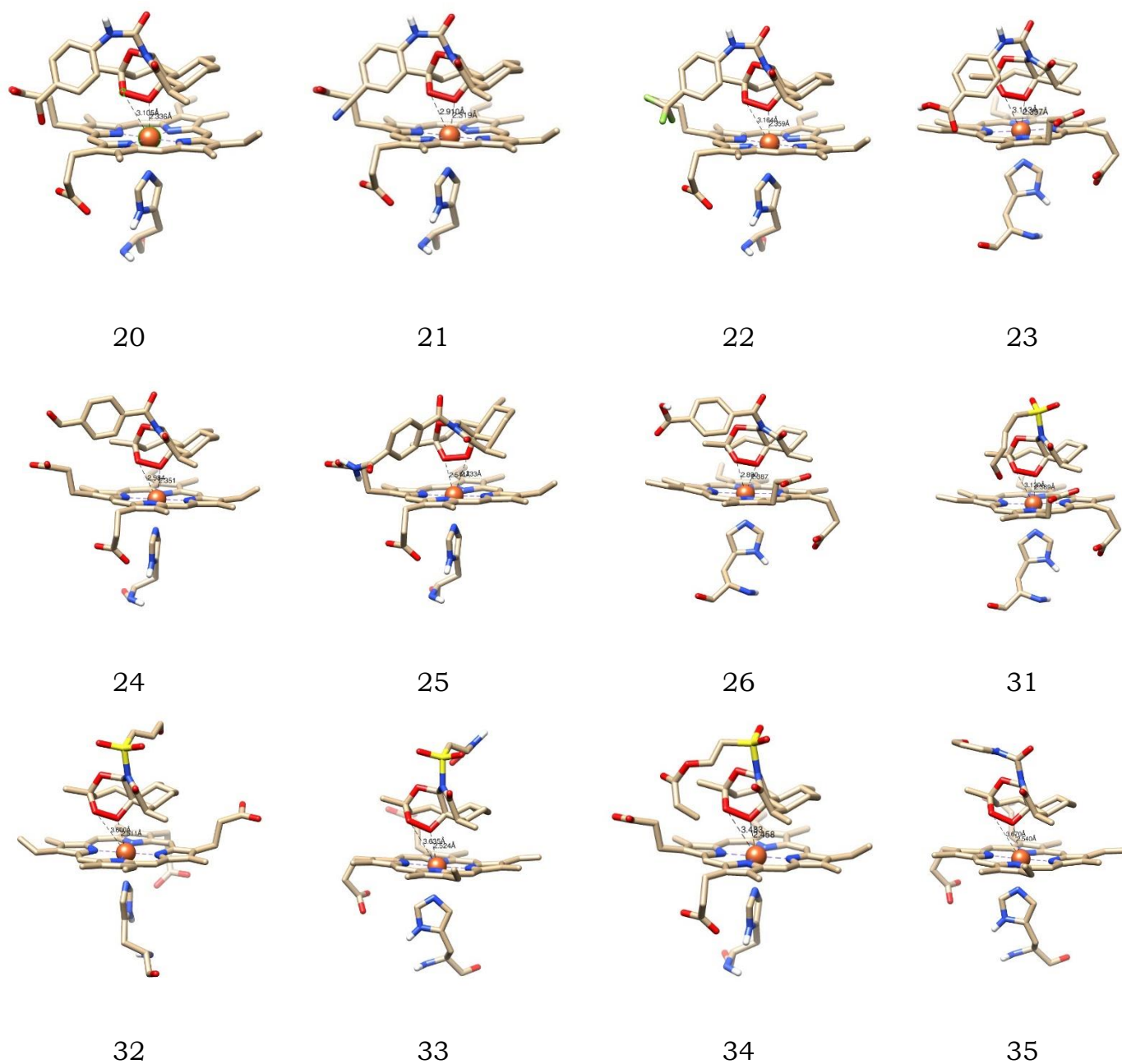
Fonte: Autor

Nota-se que os mapas de *MEP* desses compostos apresentam as mesmas características chave necessárias, reportadas no conjunto de treinamento. Semelhante ao visto nos derivados mais ativos do conjunto treinamento, as doze novas N-11-azartemisininas mostram maior densidade eletrônica na região do anel 1,2,3-trioxano e possuem

substituintes em **R** que produzem efeito indutivo negativo (I-) e efeito conjugativo positivo (+R), pois como discutido para o conjunto treinamento, esses efeitos provocam uma distribuição mais uniforme das cargas nas moléculas, que segundo esse estudo está ligada a maior atividade antimalárica das N-11-azartemisininas investigadas.

Na figura 16 é mostrada a interação ligante-receptor das doze novas N-11-azartemisininas ativas (conjunto de predição).

Figura 16: Interação das doze novas N-11-azartemisininas mais promissoras com o HEME.



Como pode ser visto as novas moléculas interagem com o HEME de maneira semelhante às moléculas mais ativas do conjunto de treinamento, ocorrendo uma interação entre a ponte peróxido (O₂ – O₁) dos novos derivados e o Fe²⁺-HEME a partir de uma aproximação pelo átomo O₂.

A tabela 12 mostra os resultados obtidos nos estudos de *molecular docking* das doze N-11-azaartemisinininas mais promissoras do conjunto de predição. Nesta tabela pode ser evidenciado d(Fe-O₁) apresentam valores maiores quando comparadas d(Fe-O₂) e situam-se nos intervalos 2,544 - 3,670 Å e 2,319 - 2,737 Å. Além disso, exibem mesmo comportamento do conjunto de treinamento. Os valores para energia de interação situam-se entre -7,45 e -5,39 kcal.mol⁻¹.

Tabela 12: Valores de d(Fe-O₁), d(Fe-O₂), Δ e energia de interação do complexo ligante-Heme para as N-11-azaartemisinininas mais promissoras do conjunto de predição

Composto	d(Fe-O ₁) ^a	d(Fe-O ₂) ^a	Δ ^b	Energia interação ^c
20	3,105	2,336	0,77	-7,14
21	2,910	2,319	0,60	-7,45
22	3,164	2,359	0,80	-7,08
23	3,113	2,397	0,71	-6,57
24	2,984	2,351	0,63	-5,45
25	2,544	2,737	1,07	-7,21
26	2,890	2,387	0,50	-6,14
31	3,139	2,389	0,75	-5,92
32	3,600	2,511	1,09	-5,77
33	3,635	2,524	1,11	-5,39
34	3,483	2,458	1,03	-5,83
35	3.670	2,540	1,13	-6,42

^a Valores em Å

^b Δ = | d (Fe-O₁) – d (Fe-O₂) |

^c Valores em Kcal.mol⁻¹

A tabela 13 mostra os descritores moleculares para as doze N-11-azartemisinas mais promissoras do conjunto de predição. Nessa tabela pode ser pontuado que para planejar novas moléculas mais promissoras deve-se combinar valores mais baixos para ϵ_{LUMO+1} e menores valores para $d(C_6-C_5)$ e TSA .

Tabela 13: Descritores moleculares das N-11-azartemisinas mais promissoras do conjunto de predição com seus respectivos valores

COMPOSTOS	ϵ_{LUMO+1}	$d(C_6-C_5)^b$	TSA^c
20	27,2213	1,5508	614,5000
21	28,9972	1,5505	615,6100
22	28,1564	1,5505	626,4700
23	26,5186	1,5506	627,4100
24	26,9829	1,5512	601,4100
25	25,4455	1,5514	618,2600
26	25,5647	1,5514	614,9500
31	42,2251	1,5514	605,5500
32	51,1420	1,5510	567,8300
33	35,3602	1,5515	595,3100
34	50,4957	1,5511	624,8400
35	26,7570	1,5514	572,8800

^a Valores em Kcal/mol

^b Valores em Å

^c Valores em Å²

Dentre as doze N-11-azartemisina mais promissoras de acordo com os modelos PR aplicados, recomenda-se as moléculas 20, 22, 33 e 35 com atividade provavelmente no universo da(s) mais ativa(s), pois comparadas aos derivados mais ativos do conjunto de treinamento, mostram maiores semelhanças tanto à distribuição mais uniforme de cargas observadas nos mapas de MEP quanto ao padrão observado de interação dessas moléculas com o receptor HEME pronunciadamente pelo átomo O₂ e valores para ϵ_{LUMO+1} mais baixos e menores valores para $d(C_6-C_5)$ e TSA .

6 CONCLUSÃO

Neste trabalho, derivados da N-11-azartemisinina foram estudados por meio de aproximações da Química quântica, interação droga-receptor e métodos de reconhecimento de padrões. Inicialmente, para estabelecer a melhor abordagem a ser seguida, cálculos de parâmetros geométricos da artemisinina foram desenvolvidos com o método/conjuntos de bases: B3LYP/6-31G e 6-31G*. Esta investigação evidenciou o método B3LYP/6-31G como o mais adequado para a continuação da pesquisa. Posteriormente, mapas de *MEP* foram construídos e permitiram identificar as características estruturais chaves dos 19 derivados N-11-azartemisinina (conjunto de treinamento), para as suas atividades e identificar eventuais interações com o receptor molecular através do reconhecimento em um processo biológico.

De acordo com o estudo de mapas de *MEP* foi possível inferir que a densidade eletrônica é maior na região do anel 1,2,3-trioxano, os substituintes em **R** que produzem efeito indutivo negativo (I-) e efeito conjugativo positivo (+R), provocam uma distribuição mais uniforme das cargas nas moléculas, que está relacionada a uma maior atividade antimalárica das N-11-azartemisininas.

A interação N-11-azartemisinina - HEME mostrou que a ponte peróxido (O₂-O₁) interage com o Fe²⁺-HEME a partir de uma aproximação pelo átomo O₂ e a d(Fe-O₁) apresentam sempre valores maiores quando comparadas a d(Fe-O₂).

As técnicas de *PR* (*PCA*, *HCA*, *KNN*, *SIMCA* e *SDA*) viabilizaram a identificação dos descritores moleculares (ϵ_{LUMO+1} , $d(C_6 - C_5)$ e *TSA*) que classificaram o conjunto de treinamento em duas classes: mais ativos e menos ativos. Vale ressaltar que a ϵ_{LUMO+1} têm uma grande probabilidade de interagir com o HEME através de um mecanismo de transferência de carga, $d(C_6 - C_5)$ pode ser visto, em geral, como uma indicação da importância das propriedades estéricas dos derivados mais ativos em seu possível mecanismo de ação e *TSA* é uma indicação que em processos envolvendo os compostos N-11-azartemisinina e o HEME, as interações

hidrofílicas podem ser importantes no mecanismo de ação desses derivados.

Os mapas de *MEP*, *molecular docking*, métodos de *PR* e a intuição química, possibilitaram a proposição de dezesseis novas N-11-azartemisininas potencialmente ativas contra o *P. falciparum*.

A aplicação dos modelos de *PR* ao conjunto de predição evidenciou doze novas N-11-azaartemisininas (20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 31, 32, 33, 34 e 35) como as mais promissoras para futuras sínteses e ensaios biológicos, que poderão validar a metodologia proposta nesta pesquisa para o desenho dessas novas moléculas com atividade contra *P. falciparum*.

Dentre as doze N-11-azaartemisinina mais promissoras de acordo com os modelos *PR* aplicados, recomendou-se neste estudo as moléculas 20, 22, 33 e 35 com atividade provavelmente no universo da(s) mais ativa(s), pois mostraram maiores semelhanças tanto nos resultados de *MEP* e o padrão observado para interação dessas moléculas com o receptor HEME pronunciadamente pelo átomo O₂, quanto valores mais baixos para ϵ_{LUMO+1} e valores menores para $d(C_6-C_5)$ e *TSA*.

REFERÊNCIAS

- ABADI. *et al.* **Handbook of Drugs for Tropical Parasitic Infections.** (2nd ed): Taylor Francis: London. p 27. 1995.
- ALLEN, F. H. **The Cambridge Structural Database:** a quarter of a million crystal structures and rising, *Acta Cryst.* B58, 380 ±388. 2002.
- ALVES, V. M.; BRAGA, R. C.; MURATOV, E. N.; ANDRADE, C. H. Quimioinformática: uma introdução. **Química Nova**, 41(2), 202-212. 2018.
- BARREIRO. Eliezer J.; FRAGA. Carlos A. M. **Química Medicinal:** As bases moleculares da ação dos fármacos. Artmed Editora. 2014.
- BACH. R.D.; DMITRENKO. O. The effect of carbonyl substitution on the strain energy of small ring compounds and their six-member ring reference compounds. **J. Am. Chem. Soc.** 128. 4598-4611. 2006.
- BEEBE. K.R.; PELL. R.J.; SEASHOLTZ. M.B. **Chemometrics:** a practical guide. New York: Wiley-Interscience. 348p. 1998.
- BERNARDINELLI, G.; JEFFORD, C.W.; MARIC, D.; THOMSON, C. WEBER, J. Computational Studies of the Structures and Properties of Potential Antimalarial Compounds Based on the 1,2,4-Trioxane Ring Structure. I. Artemisinin-like Molecules. **International Journal of Quantum Chemistry: Quantum Biology Symposium** 1994, 21, 113-131. DOI: [10.1002/qua.560520703](https://doi.org/10.1002/qua.560520703).
- BINKLEY. J. S.; POPLE. J. A.; HEHRE. W. J. Self-consistent molecular orbital methods. 21. Small split-valence basis sets for first-row elements. **Journal of the American Chemical Society**. v. 102. n. 3. p. 939-947. 1980.
- BODOR, N; GABANYI, Z; WONG, C. K. A new method for the estimation of partition coefficient [Erratum to document cited in CA110(25):231045Z]. **Journal of the American Chemical Society**, v.111(20), pp.8062-8062. 1989.
- BONNACORSI, R.R.; SCROCCO, E.; TOMASI, J. Molecular SCF Calculations for the Ground State of Some Three-Membered Ring Molecules: (CH₂)₃, (CH₂)₂NH, (CH₂)₂NH₂⁺, (CH₂)₂O, (CH₂)₂S, (CH)₂CH₂, and N₂CH₂. **The Journal of Chemical Physics**, 52, 5270 – 5284; 1970. DOI: [10.1063/1.1672775](https://doi.org/10.1063/1.1672775).
- BORCH. Richard F. **A new method for the reduction of secondary and tertiary amides.** *Tetrahedron Letters*. v. 9. n. 1. p. 61-65. 1968.

BOSTRÖM, J et al. Expanding the medicinal chemistry synthetic toolbox. *Nature Reviews Drug Discovery*, v. 17, n. 10, p. 709-727. 2018.

CALAS. M. *et al.* **Antimalarial Activity of Molecules Interfering with *Plasmodium falciparum* Phospholipid Metabolism.** *J. Med. Chem.* v. 40. n. 22. p. 3557-3566. 1997.

CHEMPLUS: Modular Extensions for HyperChem Release 6.02. **Molecular Modeling for Windows.** HyperClub, Inc., Gainesville, 2000.

DENISOV. Evgeny. An important role of intramolecular free radical reactions in antimalarial activity of artemisinin and its analogs. **Organic & biomolecular chemistry.** v. 9. n. 11. p. 4219-4225. 2011.

DENISOV. E. T.; DENISOVA. T. G. Kinetic analysis of free radical generation by peroxy. hydroxy. and alkoxy derivatives of 10-dihydroartemisinin. **Russian Chemical Bulletin.** v. 65. n. 8. p. 2072-2081. 2016

DENISOV. E. T.; DENISOVA. T. G. Hydroxyl mechanism of the antimalarial effect of artemisinin and its analogs. **Russian Chemical Bulletin.** v. 60. n. 7. p. 1421-1435. 2011.

FERREIRA, M.U.; CASTRO, M.C. Challenges for malaria elimination in Brazil. **Malaria Journal**, v. 15, n. 1, p. 1-18. 2016.

FERREIRA. M.M.C. **Quimiometria:** conceitos. métodos e aplicações. Editora da Unicamp. 2015.

FERREIRA. M.M.C. **Multivariate QSAR.** *J. Braz. Chem. Soc.* v. 13. n. 6. p. 742-753. 2002.

FRISCH, M. J.; TRUCKS, G. W.; SCHLEGEL, H. B.; SCUSERIA, G. E.; ROBB, M.A.; CHEESEMAN, J. R.; MONTGOMERY, JR., J. A.; VREVEN, T.; KUDIN, K. N.; BURANT, J. C.; MILLAM, J. M.; IYENGAR, S. S.; TOMASI, J.; BARONE, V.; MENNUCCI, B.; COSSI, M.; SCALMANI, G.; REGA, N.; PETERSSON, G. A.; NAKATSUJI, H.; HADA, M.; EHARA, M.; TOYOTA, K.; FUKUDA, R.; HASEGAWA, J.; ISHIDA, M.; NAKAJIMA, T.; HONDA, Y.; KITAO, O.; NAKAI, H.; KLENE, M.; LI, X.; KNOX, J. E.; HRATCHIAN, H. P.; CROSS, J. B.; BAKKEN, V.; ADAMO, C.; JARAMILLO, J.; GOMPERS, R.; STRATMANN, R. E.; YAZYEV, O.; AUSTIN, A. J.; CAMMI, R.; POMELLI, C.; OCHTERSKI, J. W.; AYALA, P. Y.; MOROKUMA, K.; VOTH, G. A.; SALVADOR, P.; DANNENBERG, J. J.; ZAKRZEWSKI, V. G.; DAPPRICH, S.; DANIELS, A. D.; STRAIN, M. C.; FARKAS, O.; MALICK, D. K.; RABUCK, A. D.; RAGHAVACHARI, K.; FORESMAN, J. B.; ORTIZ, J. V.; CUI, Q.; BABOUL, A. G.; CLIFFORD, S.; CIOSLOWSKI, J.; STEFANOV, B. B.; LIU, G.; LIASHENKO, A.; PISKORZ, P.; KOMAROMI, I.; MARTIN, R. L.; FOX,

D. J.; KEITH, T.; AL-LAHAM, M. A.; PENG, C. Y.; NANAYAKKARA, A.; CHALLACOMBE, M.; GILL, P. M. W.; JOHNSON, B.; CHEN, W.; WONG, M. W.; GONZALEZ, C.; POPLE, J. A. **Gaussian 98**, Revision A.6; Gaussian, Inc., Pittsburgh, 1998.

GAVEZZOTTI, A. OPEC. University of Milan. **J. Am. Chem. Soc.** V.195. p. 5220. 1983.

GOMES, Andréia Patrícia *et al.* Malária grave por Plasmodium falciparum. **Rev. bras. ter. intensiva**, São Paulo, v. 23, n. 3, p. 358-369, Sept. 2011.

GOODSELL, D. S.; MORRIS, G. M.; OLSON, A. J. Automated Docking of Flexible Ligands: Applications of AutoDock. **J. Mol. Recognition**, 9: 1-5; 1996.

GRUVAEUS, GUNNAR; WAINER, HOWARD. Two additions to hierarchical cluster analysis. **British Journal of Mathematical and Statistical Psychology**, v. 25, n. 2, p. 200-206. 1972.

HAIR JUNIOR, J. F.; ANDERSON, R.E.; TATHAM, R.L.; BLACK, W.C. **Multivariate data analysis with readings**. 4.ed. New Jersey: Prentice-Hall, 197p. 1995.

HARMSE, R.; COERTZEN, D.; WONG, H. N.; SMIT, F. J.; VAN DER WATT, M. E.; READER, J.; ... & N'DA, D. D. **Activities of 11-azaartemisinin and N-sulfonyl derivatives against asexual and transmissible malaria parasites**. 2017.

HARMSE, R.; NING WONG, H.; SMIT, F.; HAYNES, R. K.; ... & N'DA, D. D. The case for development of 11-Aza-artemisinins for malaria. **Current medicinal chemistry**. v.22(31). 3607-3630. 2015.

HAYNES, Richard *et al.* Considerations on the mechanism of action of artemisinin antimalarials: Part 1-The 'carbon radical' and 'heme' hypotheses. **Infectious Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Infectious Disorders)**. v. 13. n. 4. p. 217-277. 2013.

HAYNES, Richard *et al.* Preparation of N-Sulfonyl-and N-Carbonyl-11-Azaartemisinins with Greatly Enhanced Thermal Stabilities: in vitro Antimalarial Activities. **ChemMedChem: Chemistry Enabling Drug Discovery**. v. 2. n. 10. p. 1464-1479. 2007.

HAYNES, Richard K. *et al.* Titelbild: Artemisone—A Highly Active Antimalarial Drug of the Artemisinin Class (Angew. Chem. 13/2006). **Angewandte Chemie**. v. 118. n. 13. p. 2041-2041. 2006.

HEHRE, Warren J. *et al.* Ab initio molecular orbital theory. **Accounts of Chemical Research**. v. 9. n. 11. p. 399-406. 1976.

HOTELLING, HAROLD. The consistency and ultimate distribution of optimum statistics. **Transactions of the American Mathematical Society**, v. 32, n. 4, p. 847-859, 1930.

INFOMETRIX, INC.; **PIROUETTE 3.0.1**, Woodinville, WA, 2001.

JEFFORD, C.W.; GRIGOROV, M.; WEBER, J.; LÜTHI, H.P.; TRONCHER, J.M.J. **Journal of Chemical Information and Computer Sciences**. v.40, 354-357; 2000. ISSN: 0095-2338. 1996.

JOHNSON, R.A.; WICHERN, D.W. **Applied Multivariate Statistical Analysis**. 4.ed. New Jersey: Prentice-Hall. p. 629. 1992.

KLAYMAN, Daniel L. **Qinghaosu (artemisinin): an antimalarial drug from China**. Science. v. 228. n. 4703. p. 1049-1055. 1985.

KOROLKOVAS, Andrejus. **Fundamentos de Farmacologia Molecular: base para planejamento de fármacos**. Edart. 1977.

KUMARI, A.; KARNATAK, M.; SINGH, D.; SHANKAR, R.; JAT, J. L.; SHARMA, S.; ... & VERMA, V. P. Current scenario of artemisinin and its analogues for antimalarial activity. **European Journal of Medicinal Chemistry**. 163. 804-829; 2019.

LAWRENCE W. L., J. Parasitol. 69, 307 (1983).

LEVINE, I. N.; **Quantum Chemistry**, 5^a ed., Prentice-Hall: New Jersey, 2000.

LI, Ying. Qinghaosu (artemisinin): chemistry and pharmacology. **Acta Pharmacologica Sinica**. v. 33. n. 9. p. 1141. 2012.

LISGARTEN, J.N.; POTTER, B.S.; BANTUZEKO, C.; PALMER, R.A. **CCDC 691593**: Experimental Crystal Structure Determination, 1999, DOI: [10.5517/ccr6ng1](https://doi.org/10.5517/ccr6ng1).

LIU, J.-M. et al.. **Structure and reaction of arteannuin**. Reprinted from Acta Chimica Sinica.. v. 37. n. 2. p. 129-143. 1979.

LOBO, L.; CABRAL, L. I.; SENA, M. I.; GUERREIRO, B.; RODRIGUES, A. S.; de Andrade-Neto, V. F.; Nogueira, F. New endoperoxides highly active in vivo and in vitro against artemisinin-resistant Plasmodium falciparum. **Malaria journal**. 17(1). 1-11; 2018.

MANLY, B.F.J. **Multivariate statistical methods**. New York: Chapman and Hall. 1986. p. 154.

MARDIA, K.V.; KENT, J.T.; BIBBY, J.M. **Multivariate Analysis**. Academic Press, New York; 1979. ISBN: 9780124712522.

MARQUES A. C. Human migration and the spread of malaria in Brazil. **Parasitol Today**. pp 166–70. 1987.

MARTINO, E.; TARANTINO, M.; BERGAMINI, M.; CASTELLUCCIO, V.; CORICELLO, A.; FALCICCHIO, M.; ... & COLLINA, S. Artemisinin and its derivatives; ancient tradition inspiring the latest therapeutic approaches against malaria. **Future medicinal chemistry**. v.11(12). 1443-1459. 2019.

MATHEW. Jomon; SURESH. Cherumuttathu H. Assessment of stereoelectronic effects in grubbs first-generation olefin metathesis catalysis using molecular electrostatic potential. **Organometallics**. v. 30. n. 6. p. 1438-1444. 2011.

MCCAMMONR, B. The dendrograph: a new tool for correlation. **Geol. SOCA. m.**, 1968.

MESHNICK, S *et al.* Artemisinin and the antimalarial endoperoxidases: From herbal remedy to targeted chemotherapy. **Microbiological Reviews**, v. 60(2), p.301. 1996.

MEUNIER, B; ROBERT, A. Heme as Trigger and Target for Trioxane-Containing Antimalarial Drugs. **Accounts Of Chemical Research**, v.43(11), pp.1444-1451. 2010.

MINGOTI. S. A. **Análise de dados através de estatística multivariada:** uma abordagem aplicada. Belo Horizonte: Editora UFMG. 2005.

MINITAB 17 Statistical Software (2010). [Computer software]. State College, PA: Minitab, Inc.

M. J. FRISCH, G. W. TRUCKS, H. B. SCHLEGEL, G. E. SCUSERIA, M. A. ROBB, J. R. CHEESEMAN, G. SCALMANI, V. BARONE, B. MENNUCCI, G. A. PETERSSON, H. NAKATSUJI, M. CARICATO, X. LI, H. P. HRATCHIAN, A. F. IZMAYLOV, J. BLOINO, G. ZHENG, J. L. SONNENBERG, M. HADA, M. EHARA, K. TOYOTA, R. FUKUDA, J. HASEGAWA, M. ISHIDA, T. NAKAJIMA, Y. HONDA, O. KITAO, H. NAKAI, T. VREVEN, J. A. MONTGOMERY, JR., J. E. PERALTA, F. OGLIARO, M. BEARPARK, J. J. HEYD, E. BROTHERS, K. N. KUDIN, V. N. STAROVEROV, R. KOBAYASHI, J. NORMAND, K. RAGHAVACHARI, A. RENDELL, J. C. BURANT, S. S. IYENGAR, J. TOMASI, M. COSSI, N. REGA, J. M. MILLAM, M. KLENE, J. E. KNOX, J. B. CROSS, V. BAKKEN, C. ADAMO, J. JARAMILLO, R. GOMPERTS, R. E. STRATMANN, O. YAZYEV, A. J. AUSTIN, R. CAMMI, C. POMELLI, J. W. OCHTERSKI, R. L. MARTIN, K. MOROKUMA, V. G. ZAKRZEWSKI, G. A. VOTH, P. SALVADOR, J. J. DANNENBERG, S. DAPPRICH, A. D. DANIELS, Ö. FARKAS, J. B. FORESMAN, J. V. ORTIZ, J. CIOSLOWSKI, D. J. FOX, **Gaussian 09** (Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2009).

FRISCH, Michael J.; NIELSEN, Alice B.; FRISCH, Aeleen. **Gaussian 98 Programmer's Reference**. Gaussian. 1998.

NISAR, M.; HAYNES, R. K.; SUNG, H. H.; WILLIAMS, I. D. Mechanochemical Conversion of 11-Azaartemisinin into Pharmaceutical Cocrystals with Improved Solubility. **Foundations of Crystallography**; 2017.

NJOGU, P.M. *et al.* Design, synthesis, and antiplasmodial activity of hybrid compounds based on (2 R, 3 S)-N-benzoyl-3-phenylisoserine. **ACS medicinal chemistry letters**. v. 4. n. 7. p. 637-641; 2013.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICA DE SAÚDE OPAS/OMS. Malaria, 2016. Disponível em: https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5287:malaria-2&Itemid=875 Acesso em: 03 de novembro de 2019.

PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION - PAHO/WHO. **Interactive malaria statistics**. Washington, DC: PAHO; 2016.

POLITZER, P.; TRUHLAR, G. (editors). **Chemical Applications of Atomic and Molecular Electrostatic Potentials**. New York: Plenum Press. ISSN: 978-4757-9634-6. 1981.

POSNER, G.H *et al.* Evidence for Fe(IV)=O in the Molecular Mechanism of Action of the Trioxane Antimalarial Artemisinin. **Journal of the American Chemical Society**, Vol.117(21), pp.5885-5886. 1995.

RUDRAPAL, M.; CHETIA, D. Endoperoxide antimalarials: development, structural diversity and pharmacodynamic aspects with reference to 1,2,4-trioxane-based structural scaffold. **Drug Design: Development and Therapy**. v.10. 3575; 2016.

SCHAFTENAAR, G.; NOORDIK, J. H.; Molden: A Pre- and Post-Processing Program For Molecular And Electronic Structures. **Journal of Computer-Aided Molecular Design**, 14: 123-134, 2000.

SHARAF, M.A.; ILLMAN, D.L.; KOWALSKI, B.R. **Chemometrics**. New York: John Wiley. 332p. 1986.

SCROCCO, E.; TOMASI, J. The electrostatic molecular potential as a tool for the interpretation of molecular properties, in: **New Concepts II. Topics in Current Chemistry**, 42, 95 – 170; 1973. DOI: 10.1007/3-540-06399-4. 1973.

SOLODOVA, S.; DENISOV, E. Reactions of alkoxy and peroxy radicals formed upon the decomposition of hydroxyperoxide groups in the

artemisinin derivatives. **Russian Chemical Bulletin**, v.58(4), pp.777-785. 2009.

SOLODOVA *et al.* Artemisinin as a self-propagating radical initiator under aerobic conditions. *Mendeleev communications*, v.18(1), pp.24-26. 2008.

SRIVASTAVA. M.S.; CARTER. E.M. **An Introduction to applied multivariate statistics**. New York: Elsevier. 243p. 1983.

THOMSEN. René. **Flexible ligand docking using evolutionary algorithms: investigating the effects of variation operators and local search hybrids**. *Biosystems*. v. 72. n. 1-2. p. 57-73. 2003.

THOMAS. E.V. **A primer on a multivariate calibration**. *Anal. Chem.*. v. 66. n. 15. p. 795-803. 1994.

TODESCHINI. R.; GRAMATICA. P. **Perspectives in Drug Discovery and Design**. pp 355-380. 1998.

TODESCHINI, R.; CONSONNI, V.; **Handbook of Molecular Descriptors**, Todeschini, R., Consonni, V., eds.; Wiley: Weinheim, 2000

TOROK. D.S.; Ziffer. H.; Meshnick. S.R.; Pan. X.-Q.; Ager. A. Syntheses and antimalarial activities of N-substituted 11- azaartemisininins. **J. Med. Chem.**v.38. 5045-5050. 1995.

VARETTO, U. **MOLEKEL 5.4.0.8**. Swiss National Supercomputing Centre: Lugano (Switzerland), 2009.

VOJTĚCHOVSKÝ, JAROSLAV *et al.* Crystal structures of myoglobin-ligand complexes at near-atomic resolution. **Biophysical journal**, v. 77, n. 4, p. 2153-2174, 1999.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **World malaria report 2018**. World Health Organization. 2018.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Artemisinin resistance and artemisinin-based combination therapy efficacy: status report. **World Health combination therapy efficacy: status report**. 2017.

PLANEJAMENTO COMPUTACIONAL DE DERIVADOS N-11-AZAARTEMISININA COM ATIVIDADES CONTRA PLASMODIUM FALCIPARUM

Potencial eletrostático molecular (MEP, Molecular electrostatic potential), interação ligante-receptor (Molecular docking) e técnicas de reconhecimento de padrões (PR, Pattern recognition) foram usados para desenhar novos derivados da artemisinina potencialmente ativos contra malária do tipo Plasmodium falciparum. MEP foi usado para identificar as características estruturais chaves de artemisinina e dezenove derivados N-11-Azaartemisinina antimaláricos, reportados na literatura, necessárias às suas atividades e para investigar eventuais interações com o receptor molecular através do reconhecimento em um processo biológico. Estudos de Molecular docking desses derivados, com o receptor-HEME e de PR foram conduzidos para evidenciar interações com o alvo biológico. Os métodos PR demonstraram que os dezenove derivados N-11-azaartemisinina podem ser separados em duas classes: mais ativos e menos ativos.

Autores

Home Editora
CNPJ: 39.242.488/0002-80
www.homeeditora.com
contato@homeeditora.com
91988165332
Tv. Quintino Bocaiúva, 23011 - Batista
Campos, Belém - PA, 66045-315

