

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS

INSTITUTO DE CIENCIAS EXATAS

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

DIEGO VALOIS CORTEZ MENDONÇA

Isobruceína B e neosergeolida: Modelagem em nível de DFT e estudos de docking molecular com *Dihidrofolato Redutase* de *Plasmodium vivax*

MANAUS

2020

DIEGO VALOIS CORTEZ MENDONÇA

Isobruceína B e neosergeolida: Modelagem em nível de DFT e estudos de docking molecular com *Dihidrofolato Redutase* de *Plasmodium vivax*

Exame de dissertação apresentado ao curso de Pós-Graduação em Química (PPGQ) da Universidade Federal do Amazonas, como requisito para exame de qualificação de Mestrado em Química, área de concentração Química de Interfaces e Materiais.

Orientador: Prof. Dr. Kelson Mota Teixeira de Oliveira

MANAUS

2020

“ Grandes poderes trazem grandes responsabilidades. ”

Stan Lee

“O amor e as lagrimas são os pontos fracos de um homem, mas pode deixa-lo
infinitamente mais forte”

Ikki de Fênix

“Não é a ausência de tempestade que nos distingue, e sim quem descobrimos na
tempestade: um Cristo impertubado. ”

Max Lucado

“ Explicar a emoção de ser palmeirense, é totalmente desnecessário. E a quem não é
palmeirense, é simplesmente impossível. ”

Joelmir Beting

Dedico este trabalho a Ele, pois o Criador das estrelas preferiu morrer por você a viver sem você.

À Caroline, minha esposa, pois sem você nada disso teria acontecido. Obrigado pelo companheirismo em todos os momentos. Caroline e Ayla vocês são a razão de toda essa luta.

M539n Mendonça, Diego Valois Cortez
Isobruceína B e neosergeolida: Modelagem em nível de DFT e estudos de docking molecular com Dihidrofolato Redutase de Plasmodium vivax / Diego Valois Cortez Mendonça . 2020
81 f.: il. color; 31 cm.

Orientador: Dr. Kelson Mota Teixeira de Oliveira
Coorientador: Dr. Renyer Alves Costa
Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal do Amazonas.

1. Isobruceína B. 2. Neosergeolida. 3. Dft. 4. Docking molecular. I. Oliveira, Dr. Kelson Mota Teixeira de. II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

AGRADECIMENTOS

A realização desse trabalho só foi possível graças à colaboração de muitas pessoas, que abriram mão do tempo que tinham para a realização de suas tarefas, dedicando-o a mim para me auxiliar a chegar até aqui. Com certeza, irei lembrar-me de suas preciosas e inestimáveis contribuições.

Agradeço ao Dr. Kelson Oliveira pela orientação nesse trabalho.

Agradeço à Dr^a. Rita Nunomura pelo material cedido dos quassinóides e toda a ajuda intelectual.

A Coordenação de Pós-Graduação em Química, pela oportunidade e pela paciência de todos.

Ao Marcos Túlio, pelas muitas ajudas técnicas e incentivos no estudo dos quassinóides.

Ao Earle, companheiro de laboratório e sempre disposto a ajudar. Agradeço pelos ensinamentos, conversas e parceria de trabalho.

Ao Dr. Renyer, pela orientação, ajuda e sua disponibilidade no dia-a-dia do laboratório.

A toda a equipe do Laboratório de Química Teórica Computacional.

À Rose, Francinete, Bruna, Rosangela e Ocimar por toda a ajuda que me disponibilizaram.

Aos meus pais, por me terem proporcionado as condições necessárias e por terem acreditado em mim.

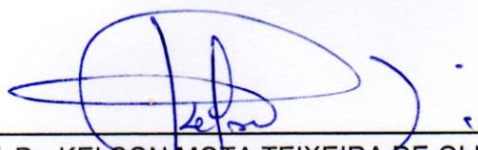
À Universidade Federal do Amazonas, por ter sido uma segunda casa.

Isobruceína B e neosergeolida: Modelagem em nível de DFT e estudos de docking molecular com Dihidrofolato Redutase de Plasmodium vivax

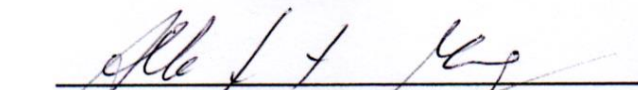
DIEGO VALOIS CORTEZ MENDONÇA

Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Química, do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal do Amazonas como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Química.

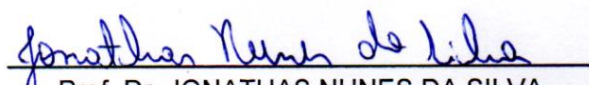
Aprovado em 03 de janeiro de 2020.



Prof. Dr. KELSON MOTA TEIXEIRA DE OLIVEIRA
Presidente/Orientador - DQ/UFAM



Prof. Dr. ALBERTO DOS SANTOS MARQUES
Membro Interno - DQ/UFAM



Prof. Dr. JONATHAS NUNES DA SILVA
Membro Externo - UNESP

RESUMO

Os quassinóides são terpenoides altamente oxigenados produzidos apenas por espécies da família *Simaroubaceae*. Os quassinóides isobruceína B e neosergeolida apresentam atividades antitumorais e antimaláricas experimentalmente comprovadas. Porém a isobruceína B e a neosergeolida apresentam valores altos de citotoxicidade, eles atingem tanto as células neoplásicas como as células saudáveis, agindo da mesma forma contra o plasmódio da malária e as células saudáveis. Mediante a essa situação se faz necessário a utilização do docking molecular, que é um procedimento computacional capaz de prever a melhor orientação e ligação entre duas moléculas. O docking indica um caminho para a elaboração de fármacos e ajuda a diminuir os problemas de citotoxicidade através de conformações. Nesse contexto, um estudo que combina dados quânticos e experimentais em nível de teoria do funcional da densidade (DFT) das propriedades estruturais, vibracionais e eletrônicas da isobruceína B e neosergeolida são apresentados. Para obtenção dos resultados foi utilizada a função base 6-311G (2d,p) e o funcional de troca e correlação introduzido por Axel Becke utilizando os parâmetros Lee-Yang-Parr (B3LYP). Os dados de otimização de geometria teórica foram comparados com os dados de raios X para uma estrutura similar na literatura associada, mostrando valores próximos. O valor do gap HOMO-LUMO calculado mostra que a isobruceína B e a neosergeolida são consideradas moléculas macias (reativas), cujo respectivos valores são 4,96 (e.V) e 4,63 (e.V) e está diretamente relacionada às propriedades quânticas e físico-químicas das moléculas. Através da verificação dos estudos de IV (Infra-vermelho) e dos MEPS (Mapas de potencial eletrostático) é possível identificar uma possível formação de dímeros intermoleculares na isobruceína B, e esta forma dimérica é estabilizada através de ligações de hidrogênio que revelaram várias vibrações características para a estrutura. O estudo de docking molecular com o complexo *Dihidrofolato Redutase* de *Plasmodium vivax* mostrou energias livres de ligação de -8,3 kcal / mol para a isobruceína B e de -9,3 kcal/mol para a neosergeolida, e isso sugere que a neosergeolida pode ser considerada um bom composto líder no desenvolvimento de novos inibidores de DHFR do que a pirimetamina, utilizada para o tratamento da malária, a energia livre de ligação ΔG apresentou um valor de -7,5 kcal / mol.

Palavras-chave: Isobruceína B, neosergeolida, DFT, Docking molecular.

ABSTRACT

The quassinoids are highly oxygenated terpenoids produced only by species of the family Simaroubaceae. The quassinoids isobrucein B and neosergeolide have experimentally proven antitumor and antimalarial activities. Nevertheless, isobrucein B and neosergeolide have high cytotoxicity values, they affect both neoplastic cells and healthy cells, acting in the same way against malaria plasmodium and healthy cells. Due to this situation it is necessary to use molecular docking, which is a computational procedure capable of predicting the best orientation and binding between two molecules. Docking indicates a pathway for drug development and helps through conformations decrease cytotoxicity problems. In this context, a study combining quantum and experimental data on the density functional theory (DFT) of the structural, vibrational and electronic properties of isobrucein b and neosergeolid are presented. To obtain the results, the base function 6-311G (2d, p) and the exchange and correlation functional introduced by Axel Becke using the Lee-Yang-Parr (B3LYP) parameters were used. The theoretical energy optimization data were compared with the X-ray data for a similar structure in the associated literature, showing close values. The calculated HOMO-LUMO gap values show that isobrucein b and neosergeolid are soft (reactive) molecule whose values is 4.96 (e.V) and 4.63 (e.V) respectively and is directly related to the quantum and physicochemical properties of both molecules. By checking the studies of IR (Infrared) and MEPS (Electrostatic potential maps) it is possible to identify a possible formation of intermolecular dimer in isobrucein B, and this dimeric form is stabilized through hydrogen bonds that revealed several characteristic vibrations to the structure. The molecular docking study with Plasmodium vivax *Dihydrofolate Reductase* complex showed free binding energies of -8.3 kcal / mol for isobrucein B and -9,3 kcal/mol for neosergeolid, and this suggests that neosergeolid can be considered a good leader compound in the development of new inhibitors of DHFR than pyrimethamine, used for the treatment of malaria, the binding free energy ΔG presented a value of -7.5 kcal / mol.

Keywords: Isobrucein B, neosergeolid, DFT, Molecular Docking.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura da molécula de quinina.	17
Figura 2: Quassinóides com grandes potenciais biológicos: Neosergeolida (estrutura I) e Isobruceína B (estrutura II). Fonte: Próprio autor	18
Figura 3: Folhas, flores, frutos, caules e raízes de <i>P. sprucei</i> . Fonte: Marcos Túlio Silva, aluno da PPGQ-UFAM.	22
Figura 4 Esqueletos básicos dos quassinóides. Fonte: Próprio autor.	23
Figura 5. Estrutura da molécula Isobruceína B. Fonte: Próprio autor	25
Figura 6. Estrutura da molécula neosergeolida.....	26
Figura 7. Estrutura isobruceína B com numerações. Fonte: Próprio autor.....	53
Figura 8.Estrutura neosergeolida com numerações. Fonte: Próprio autor.....	53
Figura 9. Mapa de potencial eletrostático molecular (MEP) da isobruceína B, utilizando o funcional de energia B3LYP e a base 6-311G (2d, p).....	55
Figura 10. Mapa de potencial eletrostático molecular (MEP) da neosergeolida, utilizando o funcional de energia B3LYP e a base 6-311G (2d, p).....	56
Figura 11. Espectros teóricos e experimental de IV da isobruceína B. A linha vermelha representa as bandas experimentais, linha azul representa as bandas teóricas e linha verde representa as bandas teóricas do dímero de isobruceína B.....	62
Figura 12. Espectros teóricos e experimental de IV da neosergeolida. A linha vermelha representa as bandas experimentais, linha azul representa as bandas teórica e linha verde representa as bandas teóricas do dímero da neosergeolida.....	62
Figura 13. Orbitais moleculares de fronteira da neosergeolida e isobruceína B.	64
Figura 14. Comparação entre espectro de UV experimental e teórico da isobruceína B. Abordagem teórica utilizada foi B3LYP 6-311G (2d, p) em metanol.	68
Figura 15. Comparação entre espectro de UV experimental e teórico da neosergeolida. Abordagem teórica utilizada foi B3LYP 6-311G (2d, p) em acetona.	69
Figura 16.Comparação entre espectro de UV experimental e teórico da neosergeolida. Abordagem teórica utilizada foi B3LYP 6-311G (2d, p) em metanol.	70
Figura 17. Modos de ligação da isobruceína b e da neosergeolida dockados ao complexo Dihidrofolato Redutase de <i>Plasmodium vivax</i> . (a) Sobreposição da isobruceína B atracada (verde) e estrutura co-cristalizada da pirimetamina (roxo); (b) Sobreposição da neosergeolida atracada (amarela) e estrutura co-cristalizada da pirimetamina (roxo). ..	72

Figura 18 (a) Interações complexo-ligante-proteína da neosergeolida e o complexo Plasmodium vivax Dihydrofolate redutase. As esferas são regiões de interação entre os átomos do ligante e os grupos do complexo plasmático de DHFR ; (b) Interações complexo-ligante-proteína da isobruceína B e o complexo Plasmodium vivax Dihydrofolate redutase. As esferas são regiões de interação entre os átomos do ligante e os grupos do complexo plasmático de DHFR. 72

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Casos de malária no Brasil ano 2018 e 2019.....	31
Tabela 2- Coordenadas e dimensões do gridbox para o arquivo 2BL9, segundo abordagem do docking molecular.....	47
Tabela 3 - Parâmetros geométricos otimizados como comprimento de ligação e ângulos de ligação da isobruceína B e da neosergeolida, utilizando o funcional de energia B3LYP e a base 6-311 G (2d,p).....	49
Tabela 4 - Valores de bandas experimentais, bandas teóricas calculadas (cm^{-1}) e atribuições vibracionais para a isobruceína B, utilizando funcional da energia de troca e correlação B3LYP e base 6-311G (2d, p). Para obtenção de melhores resultados, foi utilizado um fator de escala de 0,98 (a fim de corrigir o valor calculado para se aproximar do valor experimental).....	58
Tabela 5 - Valores de bandas experimentais, bandas teóricas calculadas (cm^{-1}) e atribuições vibracionais para a neosergeolida, utilizando funcional da energia de troca e correlação B3LYP e base 6-311G (2d, p). Para obtenção de melhores resultados, foi utilizado um fator de escala de 0,98 (a fim de corrigir o valor calculado para se aproximar do valor experimental).....	59
Tabela 6 - Valores de energia calculados para a neosergeolida e isobruceína B usando o método B3LYP e o conjunto de base 6-311 (2d, p).....	61
Tabela 7 - Energias de perturbação de segunda ordem selecionadas da isobruceína B.....	64
Tabela 8 - Energias de perturbação de segunda ordem selecionadas da Neosergeolida..	65

LISTA DE SIGLAS

B3LYP	Funcional de troca de correlação
DHFR	Enzima Dihidrofolato Redutase
DFT	Teoria do Funcional da Densidade (DFT)
De₅₀	Indicador de letalidade correspondente à dose capaz de matar 50% dos indivíduos de uma população em teste.
DL₅₀	Indicador de letalidade correspondente à dose capaz de matar 50% dos indivíduos de uma população em teste.
GAP	A diferença entre as energias dos orbitais HOMO e LUMO
HOMO	Orbital molecular ocupado mais alto
IC₅₀	Concentração do fármaco capaz de inibir 50% da população parasitária
IV	Infra-Vermelho
KB-CPT	Linhagem de células cancerígenas multirresistentes a drogas
KB-VIN	Linhagem de células cancerígenas multirresistentes a drogas
KB-7D	Linhagem de células cancerígenas multirresistentes a drogas
L3	Estágio três das larvas do aedes aegypti
LUMO	Orbital molecular não ocupado mais baixo
NADPH	Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate – Fosfato de Dinucleotídio de Nicotinamida e Adenina
NBO	O padrão de ligação molecular tipo-Lewis de pares de elétrons
PDB	Protein Data Bank – Banco de Dados de Proteínas
<i>P.falciparum</i>	<i>Plasmodium falciparum</i>
<i>P. malariae</i>	<i>Plasmodium malariae</i>
<i>P. ovale</i>	<i>Plasmodium ovale</i>

<i>P.vivax</i>	<i>Plasmodium vivax</i>
Pyl	Pirimetamina
RMSD	Root Mean Square Deviation – Raiz Quadrada do Desvio Médio
UV	Ultra-Violeta

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	17
1.Objetivos	20
1.2. Objetivos específicos	20
2.0 Revisão Bibliográfica	20
2.1. Família Simaroubaceae	20
2.1.1. Picrolemma sprucei	21
2.2. Quassinóides	22
2.2.1 Isobruceína B	25
2.2.2. Neosergeolida	26
2.3. Estudo teórico de moléculas e vantagens do DFT	27
2.4. Cálculos de docking molecular e busca por novos fármacos	29
2.5. O mecanismo do docking molecular	30
2.6. Virtual screening	32
2.6. Malária	32
3.0. METODOLOGIA	34
3.1. Fundamentação teórica da metodologia	34
3.1.1. Método Hartree-Fock	34
3.1.2. Teoria do Funcional da Densidade	38
3.1.2.1. Modelo Thomas-Fermi	39
3.1.2.2. Teoremas Hohenberg-Kohn	42
3.1.2.3. Equações de Kohn-Sham	44
3.2. Metodologia	47
3.3. Docking molecular	48
4. Resultados e Discussão	50
4.1. Otimização Geométrica	50
4.2. Mapa de potencial eletrostático	54

4.3. Infra-Vermelho (IV)	57
4.4. Analise HOMO-LUMO	62
4.5. Analises NBO	64
4.6. Análise Ultra-Violeta (UV)	68
4.7 Estudo do docking molecular	70
5.0. Considerações finais	74

INTRODUÇÃO

O Brasil possui entre 15 a 20% da biodiversidade de todo o planeta, e é provavelmente visto como o país com a maior quantidade de espécies vegetais endêmicas (VIEGAS; DA SILVA BOLZANI; BARREIRO, 2006). Apresentando, assim, uma fonte imensa de substâncias com potencial biológico para serem utilizados como futuros fármacos contra diversas doenças que prejudicam a população brasileira e mundial (DEL FIOLE et al., 2010). Isso porque na constituição das plantas estão presentes substâncias que possuem uma gama de atividades biológicas, podendo ser dessa forma utilizados na produção de fármacos essenciais no tratamento de diversas doenças como, por exemplo, as diferentes variações da malária (FRAUSIN et al., 2015). Um exemplo é a quinina (figura 1), uma substância natural retirada da casca de uma planta medicinal conhecida como *Chinchona calisaya* da família da *Rubiaceae*, abundante na América do Sul e no Brasil. Em geral as suas folhas, as cascas da raiz, dos ramos e do tronco são as partes mais utilizadas, principalmente para produção de chás com propriedades febrífugas, digestivas e antimaláricas (JONES; PANDA; HALL, 2015).

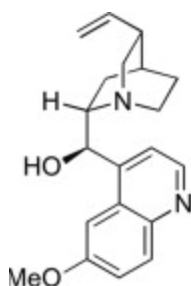


Figura 1: Estrutura da molécula de quinina, utilizada no tratamento da malária.

Como tantas outras, a planta amazônica *Picrolemma sprucei* Hook pertencente à família *Simaroubaceae*, é conhecida pela população local como uma planta medicinal, onde através das cascas da raiz, dos ramos e do tronco são produzidos chás com propriedades antimaláricas (AMORIM; POHLIT, 2006). Essa família também é conhecida pelo seu forte sabor amargo causado pela presença de quassinóides, que são triterpenos biodegradados com alto padrão de oxigenação. A presença dessas substâncias é praticamente restrita a família *Simaroubaceae* (AMORIM; POHLIT, 2006).

Os quassinóides possuem uma variedade de atividades biológicas, incluindo propriedades antineoplásica e anticancerígenas (ALMEIDA et al., 2007), antitumoral

(KUO et al., 2004), inseticidas (LATIF et al., 2000), antimalárica (SILVA et al., 2009), antifágicas (AMORIM; POHLIT, 2006) e antiparasitárias (HEISEY, 1996).

Os quassinóides podem ser divididos em grupos distintos de acordo com seus esqueletos básicos C18, C19, C20, C22 e C25. Desta maneira, devido a sua gama de características farmacêuticas e tendo em vista a quantidade de quassinóides já isolados que não possuem propriedades estruturais, eletrônicas, químicas e biológicas conhecidas, o estudo desses compostos ainda é um campo em expansão de vastas possibilidades. Especificamente, as moléculas de isobruceína B e neoergeolida (figura 2) apresentam potenciais medicinais relatados na literatura, onde podemos destacar seu potencial antimalárico. Estudos prévios indicam que essas moléculas conseguem inibir o *plasmodium falciparum* e *vivax* através da dihidrofolato redutase (DHFR) de maneira mais eficiente que a piremetamina e a cloroquina, que são fármacos utilizados no tratamento contra a malária (ALMEIDA et al., 2007; ALVES et al., 2014; AMORIM; POHLIT, 2006; FANDEUR; MORETTI; POLONSKY, 1985; SILVA et al., 2009).

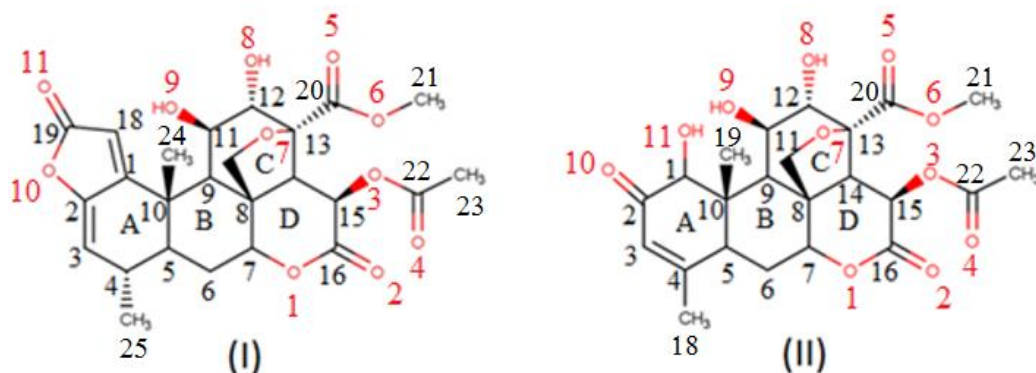


Figura 2: Quassinóides com grandes potenciais biológicos: Neorgeolida (estrutura I) e Isobruceína B (estrutura II). Fonte: Próprio autor

Nesse cenário, considerando o grande potencial bioativo dos quassinóides isobruceína B e neosergeolida em conjunto com uma abordagem teórica computacional e com dados experimentais já obtidos (RMN, UV, IV e espectrometria de massas), torna possível, por meio de cálculos teóricos quânticos uma apresentação mais completa a respeito da estrutura e do comportamento espectral dessas moléculas (COSTA et al., 2017), e é possível até mesmo prever, explicar e detalhar atividades quânticas da mesma. Dessa forma, através dos cálculos de modelos quânticos teóricos, dentre eles, a Teoria do Funcional da Densidade (DFT) e juntamente com uma abordagem clássica, como o docking molecular, é possível obter dados e ter análises que antes eram considerados

impossíveis. Isso porque o avanço computacional possibilitou um desenvolvimento da química quântica, sendo assim, é possível e viável observar comprimentos e ângulos de ligação entre átomos, orbitais HOMO-LUMO e as características reativas das moléculas, da mesma forma os mapas de potencial eletrostático (MEPS) e o estudo de propriedades óticas não lineares das moléculas em questão. Semelhantemente, outra valiosa ferramenta do estudo teórico, o docking molecular, torna possível a realização de simulações de mecanismos de interação enzima-substrato (TROT; OLSON, 2010) através da mecânica molecular que juntamente com a química teórica faz uma interação poderosa no estudo desses metabólitos secundários.

Nesse contexto, tendo em vista o grande potencial bioativo dos quassinóides isobruceína B e neosergeolida, e a falta de estudos teóricos desses quassinóides, neste trabalho será feito o estudo teórico dos quassinóides isobruceína B e neosergeolida. Dessa forma, o presente estudo tem com o objetivo caracterizar teoricamente (análises de comprimentos de ligação, MEPs, espectros teóricos de IV e UV, análises de HOMO-LUMO, NBO e estudo de docking molecular) os quassinóides oriundos da planta da região Amazônica *Pricolemma sprecei*, com o intuito de contribuir para a compreensão destas substâncias e verificar a inibição do quassinóide na dihidrofolato redutase (DHFR), uma proteína importante para substâncias antimaláricas do tipo antifolato (FIDOCK; NOMURA; WELLEMS, 1998).

1. Objetivos

1.1.Geral

Prover uma descrição completa das características espectroscópicas e quânticas dos quassinóides neosergeolida e isobruceína B, aplicando a teoria do funcional de densidade (DFT), comparando os dados calculados com os experimentais, fornecendo um retrato mais completo dos dados vibracionais, estruturais e quânticas dessas estruturas. Modelar e simular via técnica de docking a interação entre os quassinóides isobruceína B e neosergeolida e a dihidrofolato redutase (DHFR) a fim de propor um modelo teórico de atividade contra a DHFR.

1.2.Objetivos específicos

- Realizar modelagem teórica das moléculas neosergeolida e isobruceína b, através de abordagem DFT, para comparar com os resultados obtidos experimentais.
- Verificar o potencial reativo da neosergeolida e isobruceína b, a partir de valores de energia dos orbitais HOMO-LUMO.
- Modelar e simular, via técnica de docking molecular, a interação entre os quassinóides neosergeolida e isobruceína B e a dihidrofolato redutase (DHFR) a fim de avaliar as atividades biológicas dos quassinóides estudados.

2. Revisão Bibliográfica

2.1. Família Simaroubaceae

A família simaroubaceae é caracterizada por árvores e arbustos distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais, é caracterizada pela presença de substâncias amargas na casca (quassinóides), pelas folhas grafadas da maioria dos gêneros, pelos filetes apendiculados e pelos carpelos distintos ou levemente unidos, sendo estes os originários do frutículo livre. É importante destacar que a família simaroubaceae é morfologicamente diversificada e frequentemente relacionada com as famílias *Rutaceae*, *Meliaceae* e *Burseraceae*. Dentro deste grupo, está mais próximo a família *Rutaceae* no que se refere a composição química, anatomia da madeira, ausência de vasos condutores de resina na casca e estames livres; diferenciando-se apenas pela ausência de cavidades secretoras de óleos aromáticos nas folhas e partes florais (FERNANDO, E; QUINN, 1992).

As espécies vegetais dessa família são conhecidas por apresentarem sabores amargos principalmente na casca das árvores. Possuem notáveis propriedades medicinais e são muito utilizadas popularmente como vermífugos, antivirais e no combate a febres, entre outras propriedades e aplicações (BERRY; DA S. RIBEIRO, 2000).

O principal centro de distribuição das espécies dessa família ocorre na América do Sul (Brasil, Equador e Guiana Francesa) estendendo-se para o oeste da África, Madagascar, Ásia, Malásia e região da Austrália banhada pelo pacífico (FERNANDO, E; QUINN, 1992).

A família simaroubaceae é objeto de muitos estudos sobre sua constituição química e seus desdobramentos (ALVES et al., 2014; BUCHANAN; GRUISSEM; JONES, 2015). Desde 1930 inúmeros compostos foram isolados e suas estruturas elucidadas; podemos citar, quassinóides, alcalóides, triterpenos, esteróides, cumarinas, antraquinonas, flavonóides e outros metabólitos (BARBOSA; BRAZ-FILHO; VIEIRA, 2011). Dentre todas essas substâncias encontradas na simaroubaceae, os quassinóides se destacam pelo fato de serem o grupo natural de substância mais abundante. Alguns autores como ALVES et al., 2014 sugerem que os quassinóides podem ser considerados um marcador taxonômico da família Simaroubaceae.

Simaroubaceae é importante na pesquisa etnofarmacológica, muitas das suas espécies são utilizadas na medicina popular, com espécies sendo empregadas no tratamento de malária, doenças estomacais e inflamatórias e diabetes com plantas que possuem uma variedade na sua diversidade (ALVES et al., 2014).

2.1.1. *Picrolemma sprucei*

A *Picrolemma sprucei* (figura 3) é um arbusto que atinge até 2,5 m de altura, muito amargo em todas as suas partes. Apresenta folíolos cartáceos simétricos, verde-escuros e brilhantes. Quando em inflorescência, apresenta flores de pétalas alaranjadas e estames amarelos. Os frutos são apocárpicos. A raiz central é espessa e penetrante, frequentemente alcançando 2 m ou mais de comprimento. A planta pode ser encontrada principalmente em regiões de platô, na capoeira e na mata de terra firme, no norte da América do Sul, onde abrange os estados do Amapá, Pará, Amazonas e Rondônia, ver figura 4 (PIRANI; DEVECCHI, 2016).



Figura 3: Folhas, flores, frutos, caules e raízes de *P. sprucei*. Fonte: Marcos Túlio Silva, aluno da PPGQ-UFAM.

A anatomia foliar e caulinar de *P. sprucei* já foi estudada por Saraiva et al. (2003). “As epidermes das folhas são glabras, apresentam células de paredes onduladas e estômatos anomocíticos. O mesofilo é dorsiventral com uma camada de células em paliçada e um parênquima lacunoso. Os feixes vasculares são bicolaterais e apresentam idioblastos escuros de conteúdo tânico. No caule evidencia-se um parênquima cortical desenvolvido, com células de natureza esclerenquimática, isoladas ou reunidas em pequenos grupos, de paredes espessas. Internamente observa-se a região vascular com vasos xilemáticos isolados ou em grupos imersos em tecido fibroso, sendo o parênquima do tipo paratraqueal, vasicêntrico. Na região central encontra-se uma medula desenvolvida. A nervura mediana do terço médio do limbo foliar e o pecíolo possuem um conteúdo tânico e óleo-resinoso em algumas de suas células.” (SARAIVA et al., 2003)

2.2. Quassinóides

Os quassinóides são classificados em grupos de acordo com a quantidade de átomos de carbono presente em sua estrutura básica: C18, C19, C20, C22 e C25 (figura 4), porém a maioria possui a estrutura básica de C20, como a quassina, o primeiro quassinóide isolado. A maioria dessas substâncias pertencente a esta classe é altamente oxigenada, contendo lactonas (ésteres cíclicos) em suas estruturas básicas e, dificilmente possuindo mais de uma dupla ligação. Apresentam diferentes grupos funcionais oxigenados em seus esqueletos, como álcoois, cetonas, éteres e ésteres, com exceção das posições C-5, C-9 e dos grupos metilas nas posições C-4 e C-10 (ALMEIDA et al., 2007). Quando a primeira estrutura de quassinóides foi elucidada,

o crescente interesse em várias espécies da família Simaroubaceae resultou no isolamento e identificação dos mais de 200 quassinóides atualmente conhecidos (CURCINO VIEIRA; BRAZ-FELHO, 2006). Neste trabalho a numeração utilizada é a mesma do oficial para os quassinóides, os anéis A, B, C e D foram organizados de acordo com (ZUKERMAN-SCHPECTOR et al., 1994).

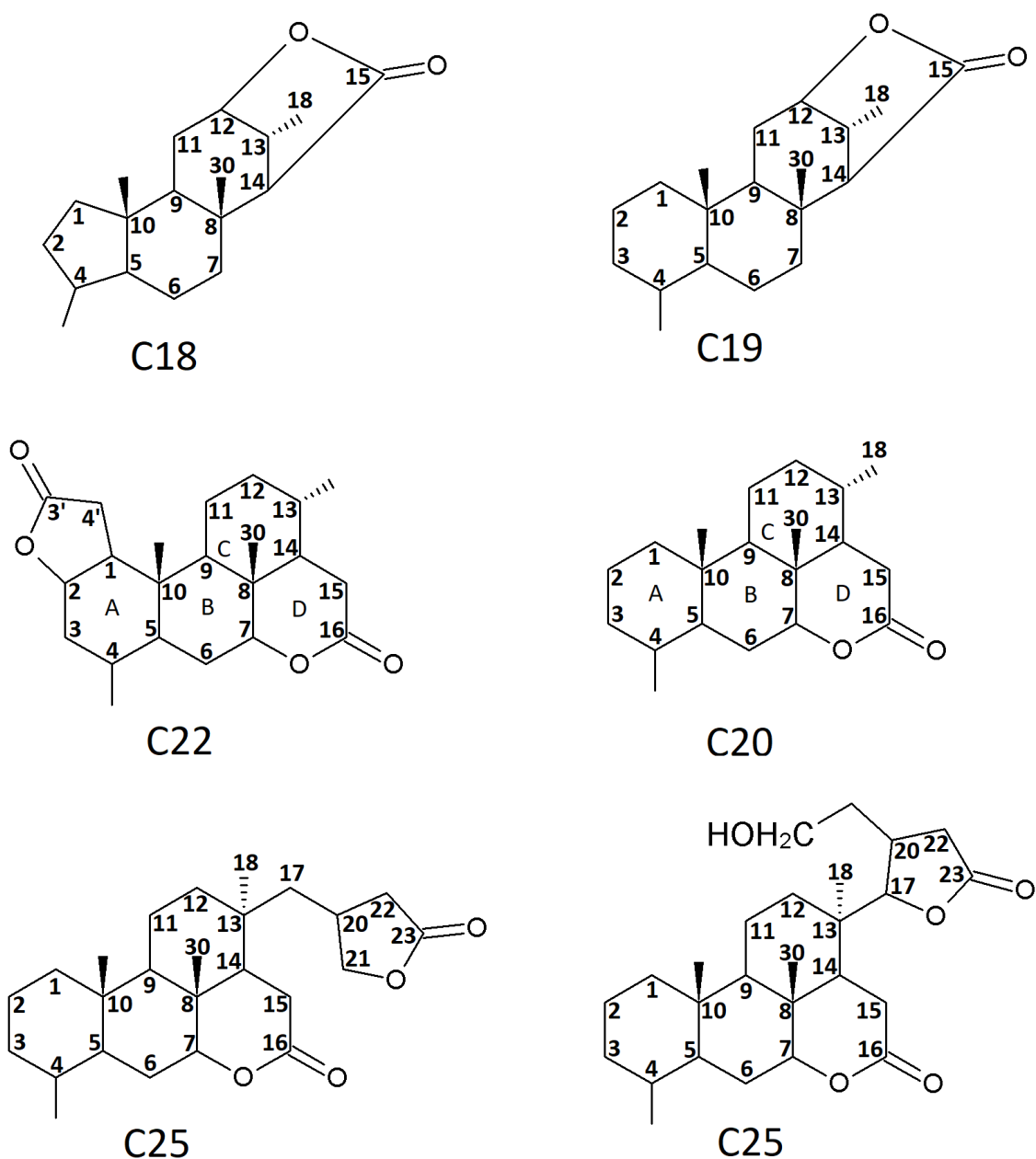


Figura 4 Esqueletos básicos dos quassinóides. Fonte: Próprio autor.

Os quassinóides são divididos em 6 grupos principais (figura 4):

- O C18 é denominado de esqueleto de lauricolactino, com esqueleto de apenas 3 anéis, sendo o anel A de cinco membros e uma ponte de oximetileno no anel C. Quantidades variáveis de grupo hidroxila, hidroxila esterificada, metoxila e carbometoxilo.
- Os C19 com esqueleto de apenas 3 anéis, são denominados esqueleto de cedralidano, onde todos os anéis da molécula possuem 6 átomos de carbono e uma ponte oximetileno no anel C.
- A maioria dos quassinóides apresenta a estrutura básica C20, denominado esqueleto de quassotidano, 4 anéis, uma ponte de oximetileno, cetona α,β -insaturada no C2, hidroxila no anel A e um éster no C15.
- A estrutura C22 apresenta uma estrutura carbônica de 4 anéis, sendo a substituição da cetona no anel A por uma lactona de cinco membros. (ALMEIDA et al., 2007).
- A estrutura C25 é denominada esqueleto de simarolidano, quantidades variáveis de grupo hidroxila, hidroxila esterificada, metoxila e carbometoxilo.

No geral os quassinóides originários da *P. sprucei* Hook apresentam estrutura C20 e C22. A isobruceína b apresenta uma estrutura C20 e a neosergeolida estrutura C22. Estes quassinóides são conhecidos pelas diversas atividades biológicas atribuídas a eles tais como: atividade antimalárica, antileucêmica, antitumoral, antifágica e inseticida (ALMEIDA et al., 2007; AMORIM; POHLIT, 2006; SILVA et al., 2009).

Além disso, a isobruceína B apresenta elevada atividade antiplasmódio tanto *in vitro* quanto *in vivo*. Utilizada uma concentração de 50ng/ml onde foi capaz de inibir em 64% o crescimento *in vitro* da cepa FUP de *Plasmodium falciparum* em culturas com até 48 h com Cl_{50} de 6ng/ml.(ALMEIDA et al., 2007; AMORIM; POHLIT, 2006).

Em relação as atividades antimaláricas da neosergeolida nos testes *in vitro* realizados com as cepas resistentes à cloroquina 98/83, 96/83 e 97/83, a neosergeolida foi capaz de inibir de maneira eficiente o crescimento do parasita, a uma concentração de 6 ng/mL, enquanto que para a cloroquina ter um resultado idêntico a neosergeolida, foi necessário uma concentração cem vezes maior. Contagens de parasitas mostraram que a neosergeolida, de forma semelhante à cloroquina, foi efetiva contra todos os estágios assexuados do parasita no sangue (AMORIM; POHLIT, 2006; ALMEIDA et al., 2007).

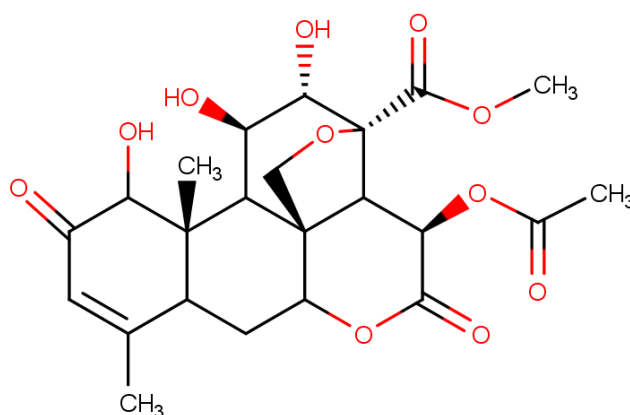
Okano e colaboradores testaram mais de 44 quassinóides e dentre todos se destacaram aqueles contendo grupos carbonila e hidroxilas no anel A (figura 2), no caso como na isobruceína B, e nos anéis de lactona com 5 membros (esse tipo de anel também conhecido como δ -valerolactona), da mesma forma que são encontrados na neosergeolida (figura 2) (OKANO; FUKAMIYA; LEE, 2000).

A isobruceína B apresenta potente atividade antifágica frente a espécie de Pulgão *Myzus persicae* s.s. (Sulzer) (Hemíptera, Aphididae), a uma concentração de 0,05%, com baixa fitotoxicidade a *Brassia campestris* var. *Chinensis* (L) Makino (repolho branco chinês). (AMORIM; POHLIT, 2006). Todas essas características citadas dos quassinóides e especialmente da isobruceína B e da neosergeolida mostram sua importância para estudos farmacológicos, atividades antifágicas, fitotóxicas e inseticidas.

2.2.1 Isobruceína B

É de conhecimento que a isobruceína B é um metabólito secundário bioativo pertencente à classe dos terpenóides altamente oxigenados conhecidos como quassinoides, classe encontrada exclusivamente na família de plantas Simaroubaceae. A isobruceína B já foi isolada pelos caules e raízes da *P. sprucei* (FANDEUR; MORETTI; POLONSKY, 1985) e a partir do extrato de folhas da *P. sprucei* (SILVA et al., 2009).

A isobruceína B apresenta uma estrutura C₂₀, e é composta por 4 anéis (sendo o anel D uma lactona), uma ponte de oximetileno entre C8 e C13, cetona α,β - insaturada no C2, hidroxila no anel A, e um éster no C15. Essas características na estrutura apresentam boa atividade citotóxica e antimalárica (ALMEIDA et al., 2007). Vide figura 5.



Como mencionado no item anterior, a isobruceína B apresenta várias atividades biológicas experimentalmente comprovadas. Podemos destacar as atividades anti-helmínticas (Nunomura et al., 2006), antimaláricas (FANDEUR; MORETTI; POLONSKY, 1985), antileucêmico (Andrade-Neto et al., 2007), antifágica e antitumoral (ALMEIDA et al., 2007).

Além de apresentar as atividades para as áreas já citadas, a isobruceína B, especificamente, apresentou citotoxicidade contra 3 linhagens de células cancerígenas de multidroga-resistentes (KB-VIN, KB-7d, KB-CPT) e de carcinoma nasofaríngeo e efeito inibitório contra a ativação do antígeno do vírus Epstein-Barr (ALMEIDA et al., 2007).

Em relação a citotoxicidade da isobruceína B em testes com camundongos no tratamento de malária mostrou que DL₅₀ (indicador de letalidade correspondente à dose capaz de matar 50% dos indivíduos de uma população em teste) de 5 mg/kg é suportável, mas um valor maior que esse é fatal devido à sua elevada toxicidade comprovada experimentalmente (FANDEUR; MORETTI; POLONSKY, 1985).

2.2.2. Neosergeolida

A neosergeolida apresenta uma estrutura C₂₂, e é composta por 5 anéis, uma ponte de oximetileno entre C8 e C13 no anel C, ligado ao anel A uma lactona de 5 membros (δ -valerolactona). Estudos sobre a neosergeolida comprovam suas atividades biológicas contra a malária, como anti-helmíntico, larvicida, citotóxica e antitumoral. (SILVA et al., 2009). Vide figura 6:

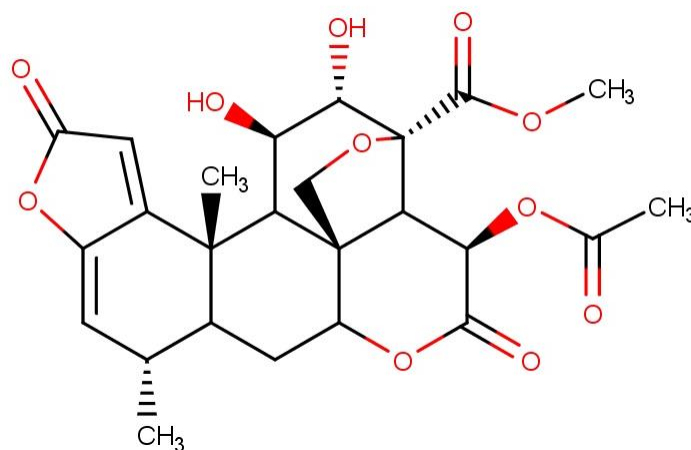


Figura 6. Estrutura da molécula neosergeolida.

Testes in vitro com compostos (dentre eles a neosergeolida) obtidos a partir de extratos da *p. sprucei hook* contra a resistente (cloroquina) cepa K1 da *p. falciparum* constatou que a neosergeolida apresentou uma significativa atividade antimalárica $IC_{50} = 2.0$ nM (concentração do fármaco capaz de inibir 50% da população parasitária) contra o *p.falciparum* (KRETTLI et al., 2001). A neosergeolida testada in vivo apresentou forte atividade antimalárica contra a infecção por *P. berghei* em camundongos em uma dose pequena devido a citotoxicidade apresentada (DE_{50} 0.26 mg/kg/dia), quanto menor a quantidade melhor o resultado (POHLIT et al., 2013).

A neosergeolida no chá da *P.sprucei hook* se mostrou eficiente em *Haemonchus contortus*, um nematoide gastrintestinal encontrado em ovinos e outros animais. Onde a concentração de 225 e 450 ppm, respectivamente (Saraiva, 2001), ou aproximadamente 1/6 a 1/3 das concentrações do teste de extrato que foram eficazes em matar *H. contortus* in vitro (SILVA et al., 2009). A neosergeolida se mostrou muito ativa in vitro em L3, produzindo mortalidade semelhante ao levamisol (fármaco comercial comumente usado em vermes intestinais na prática veterinária) na faixa de concentração de 80-90 ppm.

Como mencionado no item 2.2, a neosergeolida apresenta várias atividades biológicas experimentalmente comprovadas. Podemos destacar as atividades anti-helmínticas (Nunomura et al., 2006), antimaláricas (FANDEUR; MORETTI; POLONSKY, 1985), antileucêmico (Andrade-Neto et al., 2007), antifágica e antitumoral (ALMEIDA et al., 2007). Estudos indicam que a neosergeolida apresenta maior eficiência antimalárica quando comparada a isobruceína B, isso se deve a sua estrutura química que será discutida na seção de resultados (HUEY; MORRIS; FORLI, 2012).

2.3. Estudo teórico de moléculas e vantagens do DFT

Diante de várias moléculas já estudadas e catalogadas, com diversas propriedades ainda não conhecidas, e o concomitante avanço da química computacional dos últimos 30 anos, a utilização e implantação de ferramentas computacionais tornou-se essencial no avanço da área de química. Os métodos quânticos teóricos como por exemplo, o DFT e o Hartree-Fock (HF) tornaram possíveis a criação e desenvolvimento de programas e plataformas que disponibilizam cálculos de otimização, energia de ligação, energia de adsorção, propriedades físico-químicas, descritores de reatividade e de fácil manuseio e utilização (BRANCHES et al., 2019; COSTA et al., 2017; SHIVA PRASAD et al., 2019).

No mundo científico o estudo teórico de moléculas vem apresentando resultados promissores na área farmacológica, ao estabelecer estratégias para aumentar a especificidade e desempenho de catalisadores e compreender mecanismos impossíveis de serem estudados experimentalmente (ABREU, 2004; YANG; AYERS, 2003). Esses estudos são em nível molecular e acarretam no problema da correlação eletrônica.

A correlação eletrônica mostra a interação entre os elétrons em um sistema molecular, esse termo é proveniente da estatística e significa quando duas funções de distribuição não são independentes uma da outra. Essa função é resolvida numericamente ou através de uma expansão de orbitais em um conjunto de funções base de modo auto consistente. Dessa forma quando temos um sistema com muitos elétrons existe uma dificuldade maior para se resolver essas funções.

Existem métodos que não interpretam a interação elétron-elétron e elétron-núcleo, esses métodos são mais complexos pois levam a resultados que necessitam de um maior tratamento posterior, como é o caso do método Hartree-Fock que descreve um conjunto de elétrons aproximado por um só determinante de Slater (LOWDIN, 1954). Por outro lado, o método DFT diminuiu o problema drasticamente, onde de maneira geral reduziu os muitos elétrons a um funcional de energia exato da densidade eletrônica, partindo de um entendimento de que os elétrons estão distribuídos uniformemente no espaço. Dessa forma, a DFT tem sido mais atrativa no tocante a estudos teóricos de sistemas cada vez mais complexos (DUARTE, 2001) de modo que numa pesquisa do Google acadêmico encontramos mais de cinco milhões de trabalhos que utilizam o DFT.

O método DFT também é vantajoso por apresentar baixo custo computacional (o esforço computacional do DFT é na ordem N^3 contra N^4 para cálculos HF, onde N é o número de funções de base orbitalar) o que a torna a primeira opção em relação aos demais métodos ou níveis de teoria utilizados. Outra capacidade essencial do DFT é o fato de que ela tem como variável básica a densidade eletrônica do sistema, ou seja, uma propriedade observável do sistema. O DFT prediz a estrutura eletrônica incluindo geometrias, constantes de forças e potenciais de ionização dentre outros. Já em comparação com o método Hartree-Fock (HF) apresenta uma precisão superior nos resultados (ABREU, 2004).

Por motivos já citados anteriormente, os resultados obtidos usando o DFT são uma melhoria em relação ao uso do HF além de contemplar adequadamente vários métodos

pós-HF que envolvem efeitos de correlação eletrônica tal como a teoria de perturbação de Moller-Plesset de segunda ordem (MP2) (BERNARDO, 2006). Além de tudo isso, a teoria do DFT está sendo largamente utilizada para calcular dados de espectroscopia como por exemplo: espectros infravermelho, ultravioleta-visível e ressonância magnética nuclear com ótima precisão e que servem, por exemplo, para confirmar dados experimentais obtidos para moléculas inéditas (BRANCHES et al., 2019; COSTA et al., 2017; SHIVA PRASAD et al., 2019; SIEVÄNEN et al., 2010).

2.4. Cálculos de docking molecular e busca por novos fármacos

“No começo do século XIX a maioria dos medicamentos era remédios de origem natural, de estrutura química e natureza desconhecidas” (LAPORTE; TOGNONI; ROZENFELD, 1989). Após 1940, aconteceu uma grande chegada de novos fármacos, que trouxeram a população a possibilidade de cura para até então enfermidades fatais, principalmente quando se tratava de doenças infecciosas. (SILVA et al., 2009). Dessa forma, a busca por novos fármacos que impliquem em menores efeitos colaterais e melhor eficácia contra quaisquer doenças é um campo que talvez nunca pare de crescer (CERA; PANCOTE, 2012). Aliado a isso, a cooperação de ferramentas computacionais tem se mostrado um norteador eficaz reduzindo em até 50% tanto o custo quanto o tempo de pesquisa para essa busca (PHILLIPS et al., 2018).

A principal ferramenta utilizada para esse tipo de estudo com fármacos é o *docking* molecular, em português docking molecular significa ancoragem molecular. É uma técnica que busca prever as ligações não-covalentes feitas em uma macromolécula (receptor) e uma molécula pequena (ligante), através de simulação computacional. O processo de *docking* envolve dois passos: (1) predição da conformação, posição, orientação do ligante dentro dos sítios e (2) avaliação da afinidade de ligação. Desta forma, além de prever o sítio ativo de uma estrutura, permite elucidar as interações moleculares existentes entre receptor-ligante o que o caracteriza como forte ou fraco inibidor potencial (HUEY; MORRIS; FORLI, 2012; MENG et al., 2008). Portanto, o principal objetivo do *docking* é obter uma melhor ligação para a proteína e o ligante além da orientação relativa entre a proteína e o ligante, de modo que a energia livre do sistema geral seja minimizada e um melhor acoplamento entre as moléculas aconteça.

2.5. O mecanismo do docking molecular

O docking molecular é um método computacional que simula a interação entre duas moléculas, geralmente uma proteína, chamada receptor, e uma pequena molécula, chamada ligante, onde se faz a predição da melhor orientação entre as mesmas e se calcula a energia de ligação. Os resultados são obtidos em energia livre de ligação (ΔG°), onde quanto mais negativo o valor melhor o resultado, sendo possível assim mensurar a afinidade de ligação entre as duas moléculas.

Utilizando o docking molecular é possível ter três abordagens para se realizar um docking: 1º docking rígido-rígido, no qual tanto o ligante quanto receptor são considerados como estruturas rígidas sem nenhuma flexibilidade para sofrer torções em seus ângulos de ligação; 2º docking rígido-flexível, onde o ligante possui certa flexibilidade mas o receptor permanece no estado rígido; 3º docking flexível-flexível, dessa vez ambos receptor e ligante podem sofrer torções em sua estrutura. A primeira abordagem tem a vantagem de ser a mais rápida, permitindo a docagem de uma diversificada biblioteca de compostos químicos em reduzido espaço de tempo, entretanto seus resultados são apenas aproximados, visto que na realidade tanto receptor como ligante possuem flexibilidade e se ajustam um ao outro no momento da interação. O docking rígido-flexível procura fazer um balanceamento entre a qualidade dos resultados e o tempo de execução do processo de docking, tende a ser a mais utilizada em pesquisas, inclusive nesse presente trabalho de dissertação. A terceira abordagem apresenta os resultados mais precisos, por simular com melhor acuraria as interações. Entretanto o custo computacional para a sua implementação é elevado e o tempo gasto para calcular uma única interação pode se tornar impraticável.

O docking molecular é fundamentado na mecânica clássica, dessa forma utiliza um campo de força. O campo de força é conhecido como uma função energia potencial, que autoriza e distribui a energia total do sistema ($V(r)$), seu cálculo abrange a estrutura tridimensional (3D) do sistema. A função energia potencial ($V(r)$) inclui os termos para átomos ligados (comprimentos e ângulos de ligação, ângulos diedros) e átomos não ligados (interação de Van der Waals e de Coulomb)(NAMBA; SILVA; SILVA, 2008).

A acurácia dos resultados é fundamentada na elaboração de um campo de força com parâmetros bem definidos (NAMBA; SILVA; SILVA, 2008). No caso de sistema

biomoleculares, o campo de força mais utilizado e importante é o AMBER (MENG et al., 2008)

Normalmente é possível obter uma estrutura receptora complexada com um fármaco padrão no banco de dados Protein Data Bank (PDB: <http://www.rcsb.org/pdb/>). O fármaco padrão normalmente já vem juntamente com a enzima em questão e seu sítio é determinado experimentalmente a partir de alguma técnica como cristalografia de raios X ou espectroscopia de RMN e adicionada no PDB, mas pode derivar da construção de modelagem por homologia.

Nesse processo do docking molecular, são realizadas as coordenadas de gridbox que melhor comportam o sítio do fármaco padrão, e assim nesse próprio sítio seja introduzido o novo ligante, a molécula alvo de estudo, no caso desse trabalho de dissertação utilizaremos a isobruceína B e a neosergeolida. Uma vez determinadas as coordenadas do gridbox, inicia-se o processo chamado de redocking. Onde o ligante padrão é removido e em seguida é reinserido no sítio com as mesmas coordenadas. Se esse procedimento for executado de maneira correta é totalmente viável a execução do docking molecular, a maneira tradicional de verificar se funcionou corretamente é através do valor de RMSD (desvio da raiz quadrada média). O valor de RMSD é calculado a fim de validar o grid, sendo aceitável para um bom resultado um valor de desvio da ligação do ligante ao sítio for de até 2 (KIRCHMAIR et al., 2008).

Em seguida, é executado o cálculo de varredura com as moléculas alvo de estudo, os potenciais novos fármacos. Nessa etapa os fatores entálpicos e entrópicos são determinantes, considerando a mobilidade do ligante e da proteína, o impacto do ambiente proteico na distribuição de cargas do ligante e até possíveis interações com moléculas de água presentes no meio, principalmente quando se refere aos organismos orgânicos (MENG et al., 2011).

O resultado positivo, ou não, dessa varredura é creditada a dois componentes: o algoritmo que executa a busca e a função de score, que mede a energia de interação entre receptor e ligante, quanto mais negativo seu valor, melhor será a interação, a função de score é usada também para se escolher qual ligante dentro de uma biblioteca de compostos possui melhor afinidade com determinado receptor. No Auto Dock Vina (ADTV), programa utilizado para obtenção dos resultados deste trabalho, o procedimento de docking usa um algoritmo que seleciona as melhores amostragens e executa a melhor

interação. Realiza docking do tipo rígido-flexível, onde o receptor permanece imóvel e o ligante possui flexibilidade, (é possível também definir alguns resíduos de aminoácido do sítio ativo como sendo flexíveis). Em cada etapa há uma mutação (uma perturbação aleatória da conformação) e uma otimização local usando o algoritmo de Broyden-Fletcher-Goldfarb-Shanno. Utiliza algoritmos genéticos e implementa uma função de score que considera tanto as interações entre receptor e ligante, quanto as interações intramoleculares do ligante, sendo calculadas interações estéricas, interações hidrofóbicas, interações de hidrogênio (TROTT; OLSON, 2010).

2.6. Virtual screening

Entidades engajadas no descobrimento de novas possíveis drogas (firmas farmacêuticas) estão à procura de metodologias docking mais rápidas, mais eficientes e mais precisas. A abordagem de virtual screening tornou-se uma importante ferramenta na procura de lead compounds (potenciais fármacos). O Virtual screening é uma técnica computacional que utiliza o docking para avaliar a afinidade de ligação de um receptor contra uma biblioteca de compostos químicos, a fim de selecionar aqueles com melhor interação para futuros estudos experimentais (MUKESH; RAKESH, 2011). Ela é utilizada para varrer uma extensa database de moléculas, determinando aquelas que são ligantes ativos para um determinado alvo molecular (sítio ativo de uma proteína).

2.6. Malária

A malária é uma doença infecciosa febril aguda, que afeta principalmente populações pobres de países subdesenvolvidos e em desenvolvimento (SUH; KAIN; KEYSTONE, 2004). É transmitida pela picada de fêmeas de mosquitos de gênero *Anopheles*, esses mosquitos vivem em regiões tropicais, com elevadas temperaturas e alta umidade relativa, o que favorece a proliferação desses mosquitos.

Os agentes etiológicos são protozoários pertencentes à família Plasmodiidae e gênero *Plasmodium*. Apenas quatro espécies se manifestam em humanos, *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae* e *P. ovale*, sendo, esta última não presente no Brasil. (KRETTLI et al., 2001). *Plasmodium falciparum* é a espécie que causa a doença mais grave, sendo responsável por grande parte das mortes por malária, embora outras espécies, como *Plasmodium vivax* possam ser responsáveis por quadros letais (SNOW et al., 2005).

Alguns tratamentos para combater a *P. vivax*, *P. malariae* são feitos com a cloroquina e a primaquina (para evitar recaídas) (KRETTLI et al., 2001) e com a

pirimetamina. No entanto, a disseminação de protozoários resistentes a esse conjunto de drogas, vem tornando o tratamento difícil (KONGSAEREE et al., 2005).

O Brasil vinha em uma tendência de queda no número de casos de malária, porém no último ano houve um aumento de 28% de casos em relação a 2016, totalizando 88.757 casos até o mês de julho. E esse aumento acaba sendo muito mais agravante no norte do país por conta da fácil proliferação dos mosquitos (FORMENTI, 2018).

Em 2019 houve uma redução de 40% dos casos de malária, o motivo para explicar tal situação é a integração das ações de saúde realizadas pelo Governo Federal em cooperação com os Estados, Municípios e a população, como podemos observar na tabela 1 (PENIDO, 2019). De fato, uma melhor organização ajuda a combater a disseminação de doenças como a malária, mas vale destacar que esses resultados positivos não estão relacionados aos medicamentos utilizados, estes precisam ser trocados por novos fármacos ou serem modificados. Devido a resistência das novas cepas do *P. vivax* aos fármacos que utilizam a cloroquina, primaquina e a pirimetamina.

Tabela 1- Casos de malária no Brasil ano 2018 e 2019.

Casos notificados de malária - Brasil			
UF	2018 (ano fechado)	2019 (janeiro a março)	2018 (janeiro a março)
AC	26.306	3.334	9.787
AM	71.729	11.240	19.280
AP	15.246	2.879	2.726
MA	935	132	308
MT	878	81	186
PA	45.705	7.550	10.751

Tendo em vista essa situação alarmante se faz necessário analisar outros meios para combater a malária. Neste trabalho utilizamos a isobruceína B e a neosergeolida, simuladas via docking molecular, como alternativas contra o *Plasmodium vivax*. Estudos realizados por AMORIM, 2006 comprovam a utilização da isobruceína B e neosergeolida como alternativas no combate da malária.

3.0. METODOLOGIA

3.1. Fundamentação teórica da metodologia

3.1.1. Método Hartree-Fock

O método de campo auto-consistente de Hartree-Fock (HF) é a base para o uso de orbitais atômicos e moleculares em sistemas com muitos elétrons. É um método que considera que cada elétron se move sob a influência de um potencial atrativo devido ao núcleo e a média das interações repulsivas dele com os elétrons restantes. Neste modelo, cada um dos elétrons do sistema é considerado como independente em um sistema com muitos elétrons e é descrito por uma função de onda própria (HARTREE, 1928).

A função total de um sistema eletrônico é definida por meio de um processo iterativo, ou seja, as funções de onda de um elétron são atualizadas até que as funções de onda total de duas iterações consecutivas sejam idênticas (HARTREE, 1928).

Diferente de outras funções, a função de onda total de Hartree não apresenta anti-simetria em relação a substituição de coordenadas espacial e de spin em um sistema com dois elétrons qualquer. Por isso, o método sofreu uma modificação por Slater e Fock (SLATER, 1930; FOCK et al., 1930) que relaciona a anti-simetria e o spin eletrônico da função de onda total de acordo com o princípio de exclusão de Pauli. Esta adição da teoria de Hartree levou a formulação do atual nome do método, no caso Hartree Fock (HF) (SLATER, 1951).

No método HF temos uma função de onda multi-eletrônica, Ψ para os estados invariáveis que pode ser calculada, primeiramente, pela obtenção do resultado da equação de Schrödinger não relativista, que não considera o spin do elétron, de forma que:

$$H\Psi = E\Psi \quad (1)$$

Onde H é o operador hamiltoniano que contém no primeiro termo o operador de energia cinética e núcleo, no segundo a atração elétron-núcleo, em seguida as interações elétron-elétron e, por último no caso de moléculas a repulsão entre os núcleos. A teoria HF se baseia no método variacional, este método significa que a energia total do sistema pode ser descrita como um conjunto de parâmetros variacionais, λ , e a energia total do estado fundamental pode ser calculada como o mínimo do funcional, $E[\Psi(\lambda)]$, ou seja, $E^0 = \min E[\Psi(\lambda)]$ (ABREU, 2004).

$$\hat{H}_{el} = -\frac{1}{2} \sum_i \nabla_i^2 - \sum_A \sum_i \frac{Z_A}{r_{iA}} + \sum_j \sum_{i>j} \frac{1}{r_{ij}} = -\frac{1}{2} \sum_i \nabla_i^2 + V_i(r_i, \theta_i, \phi_i) \quad (2)$$

Com relação ao hamiltoniano molecular, existe uma aproximação simplificadora muito precisa. Como os núcleos são muito mais pesados que os elétrons, os elétrons se movem muito mais rápido que os núcleos. Consequentemente, para uma boa aproximação no que diz respeito aos elétrons, podemos considerar os núcleos como fixos enquanto os elétrons realizam seus movimentos. Portanto, considerando os núcleos como fixos, omitem-se os termos energia cinética-nuclear para obter a equação de Schrodinger para o movimento eletrônico, conhecida como a aproximação de Born-Oppenheimer (PISANA et al., 2007). Ao considerar as coordenadas de spin, definem-se funções $\chi_i(x)$ nas coordenadas de espaço e spin, x , como os produtos das orbitais espaciais $\psi_i(r)$ pelas componentes de spin $\sigma_i(\omega) = \alpha$ ou β , como:

$$\chi_i(X) = \Psi_i(r)\sigma_i(\omega) \quad (3)$$

No caso o termo “orbitais-spin” é dado para $\chi_i(X)$ e o termo “orbitais” é dado para $\Psi_i(r)$ e um sistema multi-eletrônico. As funções $\chi_i(X)$ satisfazem a equações de autovalores nas quais os elétrons ocupam orbitais-spin χ_i de energia ε_i , ou seja:

$$h\chi(X) = \varepsilon_i\chi_i(x) \quad (4)$$

Ignorando as interações elétron-elétron é plausível imaginar um sistema com N elétrons independentes com o hamiltoniano:

$$H = \sum_{i=1}^N h(i) \quad (5)$$

Assim, a equação (1) que se reduz a um conjunto de N equações semelhantes a (4), sendo Ψ o produto a seguir:

$$\Psi(x_1, x_2, \dots, x_n) = \chi_a(X_1)\chi_b(X_2) \dots \chi_n(X_n) \quad (6)$$

$$E = \varepsilon_a + \varepsilon_b + \dots + \varepsilon_n \quad (7)$$

Dessa maneira se pode confirmar que está atendendo à condição de que as funções de onda tem uma dependência temporal do tipo complexa $\chi_{(X,t)} = \chi(X)e^{i(\frac{E}{\hbar})}$.

A função de onda total é, portanto, o produto da parte orbital de todas as possíveis permutações de pares de elétrons em um sistema com N elétrons, seguindo o à condição do Princípio de Pauli de que em cada troca de dois elétron a função de onda muda de sinal, ou seja, $\Psi(x_1, x_2, \dots, x_k, \dots, x_2, x_1) = -\Psi(\dots, x_k, \dots, x_2, x_1)$ (FISCHER, 1987).

Esses orbitais são chamados orbitais do tipo Slater, uma vez que escrever uma função de onda de átomos polieletrônicos desta forma garante que ela seja antissimétrica sob a troca de qualquer par de elétrons, dessa forma é construído o chamado determinante de Slater, de modo geral (SLATER, 1951):

$$\Psi = \frac{1}{\sqrt{N!}} \begin{vmatrix} \chi_a(X1) & \dots & \chi_n(X1) \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ \chi_a(Xn) & \dots & \chi_n(Xn) \end{vmatrix}$$

Que abreviadamente é dado como:

$$\Psi = \frac{1}{\sqrt{N!}} |\chi_a(X1), \chi_b \dots \chi_n(Xn)| \equiv |\chi_a(X1) \chi_b(X2) \dots \chi_n(Xn)| \quad (8)$$

Num exemplo para um sistema de dois elétrons, como ocorre para o átomo de hélio, o determinante de Slater seguiria a forma:

$$\Psi = \frac{1}{\sqrt{2}} \begin{vmatrix} \chi_a(X1) & \chi_b(X1) \\ \chi_a(X2) & \chi_b(X2) \end{vmatrix} = \frac{1}{\sqrt{2}} |\chi_a(X1) \chi_b(X2) - \chi_b(X1) \chi_a(X2)| \quad (9)$$

Seguindo o princípio de exclusão de Pauli, onde um orbital não pode ser ocupado por mais de um elétron, equação (9) (MASSIMI, 2005). Além disso, utilizando um determinante de Slater como uma função de onda de um sistema multieletrônico com N elétrons independentes que é apropriada a um hamiltoniano $H = \sum_i^N h(i)$. Representando no estado fundamental seria:

$$(E_0) = (\Psi_0 | H | \Psi_0) = \int \Psi_0 H \Psi_0 d\tau \quad (10)$$

$$He = -\sum_1^N \frac{1}{2} \nabla_1^2 - \sum_i^N \sum_A^N \frac{Za}{|ri - R_A|} + \sum_i^N \sum_{k>i}^N \frac{Za}{|rk - k_l|} = T + Vne + Vee \quad (11)$$

Onde $d\tau$ é o elemento de volume das coordenadas x, y e z de espaço e spin de todos os elétrons. A equação (11) pode ser escrita da seguinte forma:

$$He = -\sum_1^N h(i) + \sum_i^N \sum_{k>i}^N \frac{1}{|rk - k_l|} = H^{mono} + Vee \quad (12)$$

Na equação (12) H^{mono} é a soma de operadores hamiltonianos de um elétron cada $h(i)$, e Vee é o operador que configura as interações multieletrônicas (elétron-elétron) — é uma soma de operadores de dois elétrons. Nesse formato, é possível escrever o hamiltoniano para um sistema de N elétrons e M núcleos como a soma de operadores de Fock (EDWARDS; ZERNER, 1987):

$$H = \sum_{i=1}^N f(i) \quad (13)$$

Onde as funções orbitais-spin $\chi_a(x)$ são soluções para as equações de Hartree-Fock da forma:

$$f\chi_a = \varepsilon_a\chi_a \quad a = 1, 2, \dots, n \quad (14)$$

Na sequência é importante distinguir se a molécula tem suas camadas de valência completas ou não, é necessário saber se a molécula ou átomo é paramagnético ou diamagnético. No caso para elementos paramagnéticos utiliza-se a versão sem restrições do método HF (UHF, *unrestricted Hartree-Fock*). Enquanto que para elementos diamagnéticos o estado é singleto e cada um de seus orbitais possuem dois elétrons com spins inversos. Para o último, usa-se a versão restrita do método HF (RHF, *restricted Hartree-Fock*) (AMOS; SNYDER, 2004; EDWARDS; ZERNER, 1987). A energia da versão restrita é dada por:

$$E_{HUF} = \sum_{a=1}^{OSOC} h_{aa} + \frac{1}{2} \sum_{a,b=1}^{OSOC} (J_{ab} - K_{ab}) \quad (15)$$

O uso do método restrito implica em orbitais espaciais duplamente ocupados, para isso:

$$E_{RHF} = 2 \sum_{a=1}^{odoc} h_{aa} + \sum_{a,b=1}^{odoc} (2J_{ab} - K_{ab}) \quad (16)$$

Para melhor compreensão do cálculo computacional é preferível a utilização de notação matricial. A expressão (16) é descrita na notação matricial $(F - \varepsilon S) C = 0$, ou:

$$FC = \varepsilon SC \quad (17)$$

Em que C é a matriz cujas colunas são as orbitais moleculares de coeficientes $C^a = (C_p^a)$, F e S são as matrizes de Fock e de sobreposição de componentes F_{pq} e S_{pq} , respectivamente. A equação (17) não é, no entanto, muito adequada de utilizar visto que a base de C não é ortogonal. Então a equação (14) fica melhor descrita da seguinte forma:

$$F' C' = \varepsilon C' \quad (18)$$

3.1.2. Teoria do Funcional da Densidade

A teoria do funcional da densidade (DFT, density functional theory) surgiu como uma alternativa aos tradicionais métodos *ab initio* e semi-empíricos no estudo das propriedades moleculares e do sistema fundamental. Em termos comparativos ao método HF a maior vantagem do DFT está no ganho de velocidade computacional e espaço em memória. O fato de a velocidade computacional ser maior na DFT vem do conceito de densidade de probabilidade eletrônica (ρ) na qual a teoria está firmada. Por esse motivo é que a DFT pode ser utilizada, onde em cálculos de moléculas de 40 ou mais átomos num tempo significativamente menor do que os correspondentes obtidos com métodos HF. Como exemplo desses métodos pós-HF temos Interação de Configuração (CI), a Teoria de perturbação Moller-Plesset (MP2, MP3, MP4, etc), Coupled-cluster (CC) e o Campo multi configuracional auto consistente (MCSCF).

A densidade eletrônica (ρ) possibilita uma formação conceitual mais simples em termos de química descritiva, onde não precisamos utilizar o caráter abstrato da função de onda multieletrônica. Em um sistema de N elétrons, $\rho(r)$ denota a densidade eletrônica total com valor bem definido em um ponto do espaço r . Sendo representada de forma (SZABO; OSTLUND, 2012):

$$\rho(r) = \sum_i n_i |\Psi_i(r)|^2 \quad (19)$$

Onde,

$$\rho(r) = \sum_i^{oc} n_i |\Psi_i(r)|^2 \quad (20)$$

$$\int \rho(r) dr = N \quad (21)$$

A densidade eletrônica no ponto de coordenadas r está associada ao orbital molecular $\psi_i(r)$, supostamente ocupada por n_i elétrons. O somatório de todos os orbitais ocupados é a densidade eletrônica total, e na medida que a função da densidade eletrônica total é integrada obtêm-se o total de elétrons.

Para moléculas com um estado fundamental não-degenerado, a energia molecular no caso a função de onda e todas as outras propriedades eletrônicas moleculares são

determinadas unicamente pela densidade de probabilidade eletrônica do estado fundamental $\rho(x, y, z)$ (HOHENBERG; KOHN, 1964). Hohenberg e Kohn forneceram os fundamentos da DFT moderna e mostraram que os modelos baseados nela devem ser vistos como uma aproximação exata (DUARTE, 2001). Os dois teoremas mostram que existe um funcional de energia exato da densidade eletrônica $E[\rho]$ e um princípio variacional exato para este funcional, semelhante a:

$$\delta\{E_{TDF}[\rho] - \mu N(\rho)\} = 0 \quad (22)$$

Kohn e Sham (seção 3.1.2.3) propuseram uma forma de contornar o problema de se encontrar o funcional de energia exato (KOHN, W. SHAM, 1965) e dessa maneira a DFT tem se tornado a mais utilizada técnica em vários programas de modelagem molecular bem como o programa Gaussian utilizado neste trabalho.

3.1.2.1. Modelo Thomas-Fermi

É importante entender o modelo de Thomas-Fermi (FERMI, 1927; THOMAS, 1927) para compreender a DFT, uma vez que esse é o modelo antecessor da DFT. Nesse modelo inicialmente, Thomas e Fermi (TF), na década de 1920, sugeriram a descrição de átomos como elétrons uniformemente distribuídos (nuvens carregadas negativamente) em torno de núcleos em um espaço de fase de três dimensões (momento e coordenadas) ao invés de utilizar funções de onda que possuem $3N$ coordenadas. Desta forma, o número de integrais para a descrição de um sistema foi reduzido e, conseqüentemente, o custo computacional também foi reduzido.

O modelo Thomas-Fermi está firmado na dedução que os elétrons estão uniformemente distribuídos no espaço e, procedendo de fundamentos estatísticos para aproximar a distribuição dos mesmos, foi desenvolvido o funcional de energia TF. Seguindo a abordagem TF, a energia total do sistema poderia ser apresentada como uma função (funcional) da densidade eletrônica (PARR, 1989). Um sistema multieletrônico, que pode ser uma molécula, uma superfície metálica ou qualquer agrupamento de átomos, como um gás de Fermi (gás composto por partículas denominadas de férmions que não interagem entre si e férmion é qualquer partícula que obedecem ao princípio da exclusão de Pauli) dependente da energia potencial de todos os núcleos.

Considerando um átomo no seu estado fundamental, temos um elemento de volume ΔV , dessa forma podemos definir um volume de espaço de momento esférico até o momento Fermi p_f para a partícula de forma que:

$$V_f = \frac{4}{3}\pi p_f^3(\vec{r}) \quad (23)$$

Onde $\vec{r}$ é um ponto em ΔV . Considerando o correspondente volume de fase para o conjunto de partículas temos:

$$\Delta V_{ph} = V_f \Delta V = \frac{4}{3}\pi p_f^3(\vec{r}) \Delta V \quad (24)$$

Os elétrons uniformemente distribuídos ocupam o espaço ΔV_{ph} , dois elétrons h^3 do volume considerado, onde h é a constante de Planck. Podemos descrever a quantidade de elétrons da seguinte forma:

$$\Delta N_{ph} = \frac{2}{h^3} \Delta V_{ph} = \frac{8\pi}{3h^3} p_f^3(\vec{r}) \Delta V \quad (25)$$

O número de elétrons em ΔV é definido como produto da densidade eletrônica, (ρ) ou $(\vec{n})$, pelo volume do sistema:

$$\Delta N = n(\vec{r}) \Delta V \quad (26)$$

Aplicando na equação (25):

$$(\vec{n}) = \frac{8\pi}{3h^3} p_f^3(\vec{r}) \quad (27)$$

O fragmento de elétrons em $\vec{r}$ que possuem momento entre p e $p + dp$, ou seja, a variação infinitesimal p , pode ser aplicado da seguinte forma:

$$F_{\vec{r}}(p) dp = \frac{(d\vec{n}/dp)}{2\vec{n}} = \frac{(dV_f/dp)}{\vec{n}} = \frac{4\pi p^2 dp}{\frac{4}{3}\pi p_f^3(\vec{r})} \quad (28)$$

Aplicando a expressão da energia cinética de uma partícula, onde a massa do elétron é variada no intervalo de dp , a densidade de energia cinética de um fragmento de volume de elétrons pode ser facilmente obtida como:

$$t(\vec{r}) = \int_0^{p_f} \frac{p}{2m_e} n(\vec{r}) F_{\vec{r}}(p) dp \quad (29)$$

O momento de Fermi é dado por $p_f = \sqrt{2mE_F}$ (onde $E_F = \frac{h^2}{2m\pi^2} \left(\frac{3\pi^2 N}{V}\right)^{\frac{2}{3}}$) a densidade de energia cinética é definida e substituindo as (24) e (25):

$$t(\vec{r}) = C_F [n(\vec{r})]^{\frac{5}{3}} \quad (30)$$

Dessa forma integrando a energia cinética por unidade de volume $t(\vec{r})$ por todo o espaço (d^3r) obtêm-se a energia cinética total dos elétrons, no caso os férmions que não interagem.

$$T = \int t(\vec{r}) d^3r, C_F = \frac{3}{10} (3\pi^2)^{2/3} = 2.871 \quad (31)$$

Substituindo e integrando na equação (30) a seguinte expressão para energia cinética os elétrons (férmions) no modelo Thomas-Fermi é obtida:

$$T = C_F \int [n(\vec{r})]^{5/3} d^3r \quad (32)$$

Na qual o limite $\Delta V \rightarrow 0$, com $n(\vec{r}) = \Delta N / \Delta V$ finito, foi definida assim afim de integrar e aplicar aos elétrons. A expressão (32) é o funcional de energia cinética de Thomas-Fermi citado anteriormente, esse funcional foi aplicado por Thomas-Fermi em situações com moléculas mais complexas.

A partir da expressão (32) ocorre uma aproximação da energia cinética em termos da densidade eletrônica $n(\vec{r})$, também representada por $\rho(r)$, dessa forma partindo desta definição é possível desenvolver um funcional de densidade eletrônica. A energia total é dada pela soma da energia cinética e energias potenciais:

$$E_{[\rho]} = T + U_{eN} + U_{ee} \quad (33)$$

Na qual:

$$U_{eN} = \int \rho(r) V_N(\vec{r}) d^3r \quad (34)$$

A equação (31) é a energia potencial devido à atração que o núcleo carregado positivamente exerce sobre os elétrons:

$$U_{ee} = \frac{1}{2} \iint \frac{\rho(r_1)\rho(r_2)}{r_1 - r_2} d^3r_1 d^3r_2 \quad (35)$$

A descrição total da densidade eletrônica é obtida substituindo as expressões (32), (35) e (34) na expressão (33):

$$E_{TF[\rho]} = C_F \int [n(\vec{r})]^{5/3} d^3r + \int \rho(r) V_N(\vec{r}) d^3r + \frac{1}{2} \iint \frac{\rho(r_1)\rho(r_2)}{|\vec{r}_1 - \vec{r}_2|} d^3r_1 d^3r_2 \quad (36)$$

O modelo de Thomas-Fermi fornece previsões razoavelmente boas para átomos. Já foi usado antes para estudar campos potenciais e densidade de carga em metais e equação de estados dos elementos. No entanto, este método é considerado bastante grosseiro para sistemas mais complexos, porque não incorpora a estrutura orbital real dos elétrons, já que não leva em conta fenômenos quânticos como a interação de troca. Em vista da teoria moderna de DFT, o método de Thomas-Fermi poderia ser considerado como uma aproximação à teoria mais precisa. Esses problemas contornados foram anos depois na teoria do funcional de Kohn-Sham (KS) (KOHN, W. SHAM, 1965).

3.1.2.2. Teoremas Hohenberg-Kohn

A despeito de a DFT em parte ser fruto da teoria de Thomas e Fermi, foi legitimada a partir de dois teoremas elaborados por Kohn e Hohenberg (teoremas HK) (KOHN, W. SHAM, 1965).

Hohenberg e Kohn (1964) forneceram os fundamentos da teoria moderna da DFT e mostraram que os modelos fundamentados no funcional de energia TFD devem ser analisados como uma aproximação de uma teoria exata através de dois teoremas. O primeiro teorema comprova que as propriedades de estado fundamental de um sistema de muitos elétrons são unicamente determinadas através da densidade eletrônica ou densidade de carga $\rho(r)$ dependente de três coordenadas espaciais.

A energia do estado fundamental e a função de onda do estado fundamental são determinadas pela minimização do funcional:

$$E[\psi] = \frac{\langle \psi | \hat{H} | \psi \rangle}{\langle \psi | \psi \rangle}, \text{ onde } \langle \psi | \hat{H} | \psi \rangle = \int \psi^* \hat{H} \psi dx \quad (37)$$

Nesse caso (37) cada quantidade de energia fornece um autovalor de $\hat{H}$ onde $E[\psi] \geq E_0$, nesse caso a energia mínima será maior que a energia real do estado fundamental. Em um sistema com N elétrons e um hamiltoniano não relativístico o potencial externo $v(r)$ corrige o hamiltoniano e dessa forma N e $v(r)$ determinam todas as propriedades do estado fundamental. O número de elétrons (N) e o potencial externo $v(r)$ no qual os elétrons se movem, definem completamente o sistema de muitos elétrons.

O primeiro teorema de HK estabelece que o potencial externo $v(r)$ é um funcional único. Dessa forma *a densidade eletrônica do estado fundamental de um sistema de muitos elétrons é determinada de maneira unívoca, a menos de uma constante aditiva, pelo potencial externo* (PARR, 1989).

O primeiro teorema relaciona o número de elétrons com $\rho(r)$ encontrando o estado fundamental da função de onda ψ e todas as demais propriedades do sistema. Por outro lado, dois valores diferentes de $v(r)$ e ψ não fornecem o mesmo ρ para seus estados fundamentais. Assim podemos expressar a equação (36) em dependência de $v(r)$ em termos de ρ da seguinte maneira:

$$\begin{aligned} E_v[\rho] &= T_{[\rho]} + V_{ne}[\rho] + V_{ee}[\rho] \\ E_v[\rho] &= \int \rho(r)v(r)dr + F_{HK}[\rho] \end{aligned} \quad (38)$$

Com,

$$F_{HK}[\rho] = T[\rho] + V_{ee}[\rho] \quad (39)$$

O termo $V_{ee}[\rho]$ referente ao potencial de repulsão elétron-elétron tem como componentes:

$$V_{ee}[\rho] = J[\rho] + \text{termo não clássico} \quad (40)$$

O termo $J[\rho]$ refere-se a repulsão clássica: $J[\rho] = \frac{1}{2} \iint \frac{1}{r_{12}} \rho(r_1)\rho(r_2)dr_1dr_2$ e o outro termo refere-se à uma quantidade muito importante e indispensável na DFT, que antes era desconsiderada no modelo Thomas-Fermi, a energia de troca e correlação.

O segundo teorema de HK prova que a densidade eletrônica correta do estado fundamental minimiza a energia funcional, e este teorema define uma energia funcional para o sistema. Na prática, utilizando o princípio variacional, o segundo teorema diz que para *uma tentativa de densidade eletrônica $\check{\rho}(r)$, onde $\check{\rho}(r) \geq 0$ e $\int \check{\rho}(r)dr = N$, a energia total do sistema será sempre maior ou igual a energia exata do sistema, ou seja $E_0 \leq E_v[\check{\rho}]$, onde $E_v[\check{\rho}]$ é o funcional de energia da equação (38). A função de onda, por sua vez, pode ser usada como uma função tentativa para um sistema com potencial externo v . De acordo com o segundo teorema tem-se (HOHENBERG; KOHN, 1964):*

$$E_0 = E_v[\rho] = F_{HK}[\rho] + \int \rho(r)v(r)dr \leq E_v[\check{\rho}] = F_{HK}[\check{\rho}] + \int \check{\rho}(r)v(r)dr \quad (41)$$

3.1.2.3. Equações de Kohn-Sham

A equação de Kohn-Sham pode ser comparada com a equação de Schrodinger tendo em vista um sistema fictício composto de partículas que não interagem entre si, onde a densidade gerada seja igual à do sistema real original com partículas que interagem entre si.

Para um sistema multieletrônico estado fundamental de energia pode ser obtido a partir do mínimo da energia do funcional:

$$E[\rho] = \int \rho(r)v(r)dr + F[\rho] \quad (42)$$

Com:

$$F[\rho] = T[\rho] + V_{ee}[\rho] \quad (43)$$

A densidade do estado fundamental é a densidade que caracteriza o $E[\rho]$, partindo da hipótese que a quantidade de elétrons por unidade de volume é a densidade eletrônica total

$$N = N[\rho(r)] = \int \rho(r)dr \quad (44)$$

O método de Lagrange é utilizado afim de inserir essa condição, onde a densidade eletrônica do estado fundamental deve satisfazer o seguinte princípio variacional

$$\delta\{E[\rho] - \mu[\int \rho(r)dr - N]\} = 0 \quad (45)$$

Com:

$$\mu = \frac{\delta E[\rho]}{\delta p(r)} = v(r) + \frac{\delta F[\rho]}{\delta \rho(r)} \quad (46)$$

Na equação (46) temos μ , o multiplicador de Lagrange que se refere ao potencial químico. Esse funcional está estruturado na base do modelo Thomas-Fermi que consiste em uma aproximação das formas da energia cinética $T[\rho]$ e potencial de repulsão eletrônica V_{ee} , essa aproximação não é tão precisa, existem diversas limitações a ele. Em

função disso Kohn e Sham propuseram a introdução de orbitais no funcional de energia cinética, o resultado seria obtido com uma boa precisão, deixando uma pequena correção residual que é tratada separadamente (PARR, 1989). O ideal é utilizar a formula exata da energia cinética para o estado fundamental:

$$T_s = \sum_i^N n_i \left\langle \psi_i \left| -\frac{1}{2} \nabla^2 \right| \psi_i \right\rangle \quad (47)$$

Na equação (47), ψ_i não é uma função de onda, mas sim o spin-orbital e n_i os números de ocupação (número partículas que ocupam um determinado estado quântico), onde de acordo com o princípio de Pauli, $0 \leq n_i \leq 1$. Segundo os princípios dos teoremas de Hohenberg-Kohn, T é um funcional da densidade eletrônica total que é dada por:

$$\rho(r) = \sum_i^N n_i \sum_s |\psi_i(r, s)|^2 \quad (48)$$

Nas equações (47) e (48) existem infinitos termos em um sistema interativo, contudo Kohn e Sham apresentaram um termo que poderia solucionar o problema assumindo $n_i = 1$ para N orbitais e a representação da energia cinética se torna válida para a função de onda determinante que descreve elétrons não interativos, onde se tem:

$$T_s[\rho] = \sum_i^N \left\langle \psi_i \left| -\frac{1}{2} \nabla^2 \right| \psi_i \right\rangle \quad (49)$$

Onde:

$$\rho(r) = \sum_i^N \sum_s |\psi_i(r, s)|^2 \quad (50)$$

Dessa forma se faz válido para a função de onda determinante que descreve elétrons não interativos:

$$\Psi = \frac{1}{\sqrt{N!}} \det[\psi_1 \psi_2 \psi_3 \dots \psi_N] \quad (51)$$

E

$$T_s[\rho] = \left\langle \Psi \left| \sum_i^N \left(-\frac{1}{2} \nabla^2 \right) \right| \Psi \right\rangle = \sum_i^N \left\langle \psi_i \left| -\frac{1}{2} \nabla^2 \right| \psi_i \right\rangle \quad (52)$$

Na fórmula (52), $T_s[\rho]$ é o funcional de energia cinética de um sistema de elétrons, um sistema que os elétrons não interagem na mesma densidade eletrônica do sistema. A fim de ter uma única decomposição em termos de orbitais que fornecessem um único valor de $T_s[\rho]$, Kohn e Sham propuseram que $T[\rho]$ fosse o funcional de cinética puro e

exato de um sistema em que os elétrons não interagissem, desta forma a teoria acaba sendo de partículas independentes (PARR, 1989; KOHN, W. SHAM, 1965). Para isso é necessário invocar o funcional $F[\rho]$ (45) de modo que:

$$F[\rho] = T_s[\rho] + J[\rho] + E_{xc}[\rho] \quad (53)$$

Com:

$$E_{xc}[\rho] = T[\rho] - T_s + V_{ee}[\rho] - J[\rho] \quad (54)$$

Assim, o funcional $E_{xc}[\rho]$ é o termo de interação não clássica $T[\rho]$ mais a parte residual da energia cinética $T_{S\rho}$, sendo a diferença a energia cinética exata para o sistema de elétrons que interagem. Substituindo esse argumento na equação (46):

$$\mu = v_{\text{eff}}(r) + \frac{\delta T_s[\rho]}{\delta \rho(r)} \quad (55)$$

Na qual $v_{\text{eff}}(r)$ é o potencial efetivo de Kohn-Sham, que é definido na seguinte equação:

$$v_{\text{eff}} = v(r) + \frac{\delta J[\rho]}{\delta \rho(r)} + \frac{\delta E_{xc}[\rho]}{\delta \rho(r)} = v(r) + \int \frac{\rho(r')}{|r-r'|} dr' + v_{xc}(r) \quad (56)$$

onde v_{xc} é o potencial de troca de correlação ou potencial efetivo e é dado por

$$v_{xc}(r) = \frac{\delta E_{xc}[\rho]}{\delta \rho(r)} \quad (57)$$

O potencial efetivo possui uma densidade eletrônica que satisfaz a equação (55) pela simples relação do somatório de N elétrons:

$$\left[-\frac{1}{2} \nabla^2 + v_{\text{eff}}(r) \right] \psi_i(r) = \varepsilon_i \psi_i \quad (58)$$

$$\rho(r) = \sum_i^N \sum_s |\psi_i(r, s)|^2 \quad (59)$$

Esse conjunto de equações trabalha de forma autoconsistente, onde a partir de uma ρ tentativa é obtido um v_{eff} (56) que aplicado nas equações (58) e (59) geram uma nova $\rho(r)$, onde um valor exato satisfaça as condições da na equação (42) somando-se assim a energia total mínima do sistema em questão. Assim as equações de KS, de maneira parecida às equações de Hartree Fock, utilizam equações de um elétron que descrevem sistemas de muitos elétrons. Importante destacar que as equações de KS possuem um valor exato pelo fato de incorporarem totalmente os efeitos da correção eletrônica e

resolverem os problemas variacionais da DFT (DUARTE, 2001). Para sistemas multieletrônicos o aspecto de suma importância é a aplicação de funcionais de troca e de correção como os expressos nas equações (53), (54), (56) e (57).

Os funcionais da energia de troca e correlação são modelados usando considerações teóricas do comportamento da densidade em várias situações extremas, e normalmente um valor empírico é introduzido, neste trabalho utilizamos o funcional B3LYP o qual tem três parâmetros de Becke e mais outros três de Lee, Yang e Parr:

$$E_{xc}^{B3LYP} = E_{xc}^{LDA} + a_0(E_X^{HF} - E_X^{LDA}) + a_X(E_X^{GGA} - E_X^{LDA}) + a_c(E_C^{GGA} - E_C^{LDA})$$

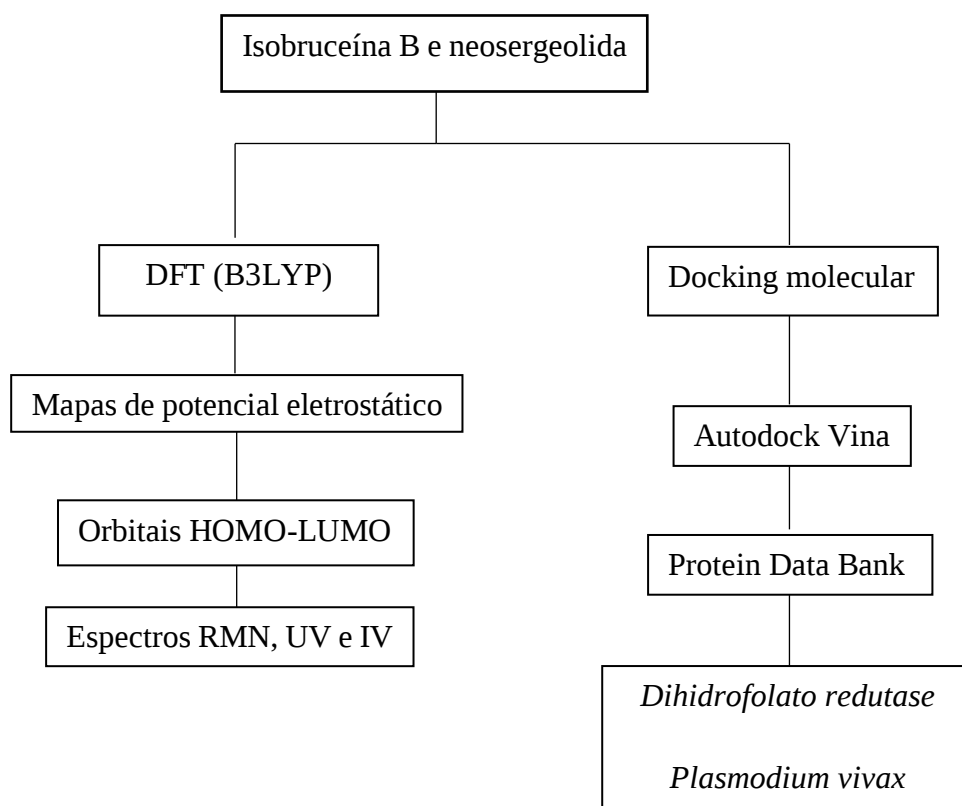
No qual $a_0=0.20$, $a_X=0.72$ e $a_c=0.81$, E_X^{HF} é o funcional de troca e correlação de Hartree-Fock, E_X^{GGA} é o funcional de troca de Axel Becke (KOHN; BECKE; PARR, 1996) e E_C^{GGA} é o funcional de correlação eletrônica de C.Lee, Weitao Yang e Robert Parr (PARR e YANG, 1989; KOHN; BECKE; PARR, 1996).

3.2. Metodologia

Os quassinóides Isobruceína B e Neosergeolida foram isolados da espécie vegetal *Picrolemma sprucei* Hook., coletada na mata do campus universitário da Universidade Federal do Amazonas (Manaus, Amazonas) próximo à FAGED (Faculdade de Educação). Foi feita uma triagem das plantas separando-as em raízes, caules (talos) e folhas. As exsiccatas das plantas encontram-se no herbário do ICB – UA identificadas com os números: 5729 e 5730 no Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Amazonas. A metodologia de isolamento, análises espectroscópicas e espectrométricas (NMR 1H e 13C, HMBC, HSQC, ESI-MS e FT-IR) dos quassinóides supracitados estão descritos no trabalho realizado por Saraiva (2001).

Os cálculos químico quânticos teóricos foram realizados usando o Programa Gaussian 09 (Revisão D.01) na plataforma Debian LINUX (versão 5.0) em um PC INTEL CORE™ i7 com 16 GB de RAM. A abordagem DFT foi usada para otimizar a geometria utilizando os conjuntos de base 6-311G (2d, p) e o funcional B3LYP. Os espectros teóricos de IV obtidos, foram uniformemente escalonados por um fator de 0,98 (frequências imaginárias ou autovalores negativos não foram encontrados). Os espectros de UV foram calculados usando o TD-B3LYP- FC funcional, com base 6-311G (2d, p), usando o modelo PCM tendo metanol como solvente. Os valores de NBO foram obtidos com o programa NBO 3.1, conforme implementado no pacote GAUSSIAN 09, usando o

mesmo nível de teoria. As atribuições dos números de onda IR calculados foram auxiliadas pela opção de animação do programa GAUSSVIEW 5.0, que fornece uma representação visual dos modos vibracionais. A distribuição de energia potencial (PED) foi calculada com auxílio do pacote de software VEDA4. Para melhor entendimento, a metodologia computacional está descrita no fluxograma abaixo:



3.3. Docking molecular

Cálculos de docking molecular foram realizados com o programa AutoDock Vina, utilizou-se a proteína *dihidrofolato redutase* (DHFR) em conjunto com seu inibidor Pirimetamina (Pyl).

A DHFR forma uma única estrutura bifuncional com o *Plasmodium vivax*, na forma de dímeros, esse processo não ocorre com outros organismos (CHAIANATAKUL, 2013). Sendo assim, a DHFR no *Plasmodium vivax* forma a tetraidrofolato usando o NADH por meio de uma reação enzimática para a produção de purinas e alguns aminoácidos.

Uma maneira de evitar a produção de purinas da DHFR é utilizando o fármaco padrão Pyl. A Pyl inibe a enzima DHFR, bloqueando a biossíntese de purinas e pirimidinas, essenciais para a síntese de DNA e multiplicação celular. Esse fármaco inibe a multiplicação celular quando o esquizonte se forma no eritrócito ou no fígado.

A isobruceína B e a neosergeolida serão comparadas ao fármaco Piremetamina a fim de se analisar dentre as três qual fará uma interação mais eficiente com a DHFR com o intuito de inibir essa enzima que gera tantos transtornos através da malária.

Dentre os alvos moleculares reconhecidos de *Plasmodium vivax*, apenas DHFR possui estrutura cristalográfica resolvida e depositada no PDB. A estrutura foi obtida no site Protein Data Bank (<http://www.rcsb.org/pdb/>) sob o código 2BL9. Para melhor resultado, a fim de evitar interações desnecessárias, as moléculas de água foram removidas no arquivo PDB (pois o complexo está cristalizado), utilizando o programa *Visual Molecular Dynamics* (VMD) na enzima. Em seguida, a caracterização do gridbox, utilizando o software *AutoDock Tools* (ADT) (HUEY; MORRIS; FORLI, 2012) foi feito o *gridbox* (área onde é realizado o cálculo em que o programa busca a menor energia de ligação entre o ligante e o sítio ativo da macromolécula) (TROTT; OLSON, 2010). O *gridbox* utilizado consta na tabela 2;

Tabela 2. Coordenadas e dimensões do gridbox para o arquivo 2BL9, segundo abordagem do docking molecular.

2BL9	X	Y	Z
Coordenadas	91,071	13,731	34,479
Dimensões	22 Å	16Å	16 Å
RMSD	0,3412Å		

Em seguida foi realizado o redocking por meio do software *AutoDockVina* (ADV) (TROTT; OLSON, 2010). Foram utilizados para tanto as melhores coordenadas do gridbox e as coordenadas da enzima e do ligante co-cristalizado, e foram calculados os valores de RMSD (*root mean square deviation*). Os valores de RMSD até 2Å são aceitáveis para um protocolo de acoplamento, gerando assim uma confiabilidade nas coordenadas da gridbox. No caso o valor obtido foi de 0,3412. A partir disso, pôde-se

realizar os cálculos com os quassinóides isobruceína B e neosergeolida no processo de docking.

Após conseguir as melhores coordenadas do *gridbox*, inseriu-se individualmente no software *AutoDockVina* (ADV) (TROTT; OLSON, 2010), assim como o arquivo da enzima e do ligante co-cristalizado que são separados anteriormente no tratamento das enzimas, para um processo de sobreposição chamado de redocking. Os valores de RMSD (*root mean square deviation*) até 2 Å são aceitáveis para um protocolo de acoplamento, gerando assim uma confiabilidade nas coordenadas da *gridbox*, no caso o valor obtido para ambos os processos foi de 0,3412. A partir disso, pôde-se realizar os cálculos com os quassinóides isobruceína B e neosergeolida no processo de docking.

4. Resultados e Discussão

Os resultados obtidos no presente trabalho encontram-se descritos a seguir:

4.1. Otimização Geométrica

Os dados de geometria teórica das estruturas da isobruceína B e da neosergeolida foram comparados com os dados de raio x experimental da neosergeolida (ZUKERMAN-SCHPECTOR et al., 1994) e estão reunidos na tabela 3. Ambas as estruturas apresentaram um eixo de simetria C1 de energias -1721.24 Hartree atomic units e -1797.47 Hartree atomic units, respectivamente. Lembrando que valores negativos indicam um resultado espontâneo na termodinâmica. Esses cálculos foram gerados no Gaussian, e para todos os cálculos executados no Gaussian a unidade utilizada é atomic units (a.u.), conhecida como Hartree.

Os valores de RMSD obtidos para a isobruceína B é 0,055103 e para a neosergeolida 0,045086, o RMSD é um cálculo que mostra a diferença entre os dados da geometria experimental e teórica, é um cálculo básico de estatística largamente utilizada para demonstrar a proximidade do resultado teórico com o experimental, o que torna os resultados teóricos confiáveis para descrição estrutural e conformacional (COSTA et al., 2019).

Parâmetros geométricos da isobruceína B indicam que a molécula apresenta distorções em sua estrutura, pelo fato de os 4 anéis apresentarem diferentes valores de ângulos e comprimentos de ligação entre as ligações C-C e C-O. Vide figura 7:

Em relação a isobruceína B, também foram registradas distorções em seus comprimentos e ângulos de ligação, principalmente nos anéis A e D, destacando os comprimentos de ligação 1,33 Å (C3-C4), 1,46 Å (C2-C3), 1,41 Å (C1-C10), 1,52 Å (C7-C8), 1,53 Å (C8-C14), 1,51 Å (C14-C15), 1,53 Å (C15-C16) e 1,46 Å (O1-C7) e ângulos 106,40° (C5-C9-C10), 126,51° (C7-O1-C16), 107,09° (C7-C8-C14), 122,51° (O2-C16-C15). Os anéis B e C revelaram certa uniformidade, descritos pelos valores de comprimento de ligação 1,53 Å (C5-C6), 1,52 Å (C7-C8), 1,56 Å (C8-C9), 1,58 Å (C9-C10), 1,51 Å (C6-C7), 1,54 Å (C12-C13), 1,54 Å (C13-C14), 1,55 Å (C9-C11) 1,53 Å (C8-C14) e 1,56 Å (C11-C12) e ângulos 112,63° (O1 -C7 -C8), 110,11° (C6-C5-C10), 115,12° (C8-C9-C10), 109,80° (C9-C11-C12), 113,41° (C9-C11-C12), 107,20° (O8-C12-C11).

Para a neosergeolida (figura 8), o anel A revelou distorções, apresentando diferentes valores presentes em seus comprimentos de ligação, como 1,33 Å (C2-C3), 1,50 Å (C3-C4), 1,52 Å (C1-C10) e 1,55 Å (C4-C5) e ângulos como 118,89° (C3-C2-C1), 120,86° (C2-C3-C4) e 110,82° (C3-C4-C5). A presença de um anel de 5 membros (δ -valerolactona) reduz o comprimento da ligação C1-C2 (1,45 Å) em comparação com a isobruceína B (comprimento C1-C2 igual a 1,53 Å), pois a isobruceína B não possui esse anel de δ -valerolactona. Numa comparação entre as moléculas a presença de um anel δ -valerolactona torna a neosergeolida mais reativa e suscetível a reações e interações químicas.

Em relação ao anel B da neosergeolida, certa uniformidade foi registrada pelos comprimentos de ligação próximas, 1,53Å (C5-C6), 1,52Å (C7-C8), 1,56Å (C8-C9), 1,58Å (C9-C10) e 1,51 Å (C6 -C7) e valores de ângulos, 111,35° (C5-C6-C7), 110,64° (C6-C5-C10), 113,68° (C8-C9-C10). O anel C mostrou comprimentos de ligação em torno de ~ 1,54 Å e ângulos distorcidos leves, 110,25° (C11-C12-C13), 112,23° (C9-C8-C14), 113,00° (C14-C13-C12). O anel D, revelou distorções, como 1,46 Å (C7-O1), 1,34 Å (C16-O1), 1,53 Å (C16-C15), 1,52 Å (14-C15).

Tabela 3 - Parâmetros geométricos otimizados como comprimento de ligação e ângulos de ligação da isobruceína B e da neosergeolida, utilizando o funcional de energia B3LYP e a base 6-311G

(2d, p) em comparação com o valor experimental da neosergeolida (ZUKERMAN-SCHPECTOR et al., 1994).

Parametros	Isobruceína B	Neosergeolida	Experimental
<i>Comprimento de ligação</i>			
C2-C3	1.452	1.330	1.313
C3-C4	1.343	1.502	1.502
C4-C5	1.520	1.548	1.553
C5-C10	1.568	1.574	1.571
C5-C6	1.531	1.533	1.528
C7-C8	1.527	1.522	1.517
C8-C9	1.564	1.561	1.557
C5-C6	1.531	1.536	1.528
C6-C7	1.521	1.517	1.500
C9-C10	1.578	1.586	1.568
C12-O8	1.420	1.424	1.527
C1-C10	1.517	1.519	1.516
C2-O10	1.371	1.218	1.392
C13-C20	1.446	1.536	1.524
C9-C11	1.563	1.558	1.546
C11-C12	1.546	1.542	1.555
C12-C13	1.543	1.542	1.519
C13-C14	1.532	1.529	1.515
C8-C14	1.539	1.549	1.530
O1-C7	1.469	1.461	1.482
O1-C16	1.355	1.349	1.327
C15-C16	1.531	1.535	1.519
C14-C15	1.512	1.520	1.514
<i>Ângulo de ligação</i>			
C11-C12-C13	114.239	110.254	112.8
C9-C8-C14	110.913	112.238	113.1
C12-C13-C14	112.375	113.003	112.7
C8-C9-C10	113.403	113.686	113.2
C5-C6-C7	111.204	111.355	112.6
O1-C7-C8	112.443	111.960	110.6
C6-C5-C10	110.634	110.640	110.6
C1-C2-C3	117.957	118.891	127.3
C3-C4-C5	121.076	110.821	111.2
C2-C3-C4	121.979	120.864	120.7
C9-C11-C12	112.748	113.411	114.3
O8-C12-C11	109.746	107.207	112.8
O2-C16-C15	122.102	122.516	121.9
O3-C15-C16	110.244	111.120	110.3
C13-O7-C17	109.222	109.791	108.5
C7-C8-C17	114.789	115.608	106.8
C9-C8-C17	113.226	112.856	113.0
C8-C9-C10	106.012	115.123	113.2
C9-10-C11	116.116	116.169	117.0
C5-C9-C10	106.451	106.402	107.5
O2-C16-C15	122.102	122.516	121.9
C8-C14-C15	113.728	114.832	112.7

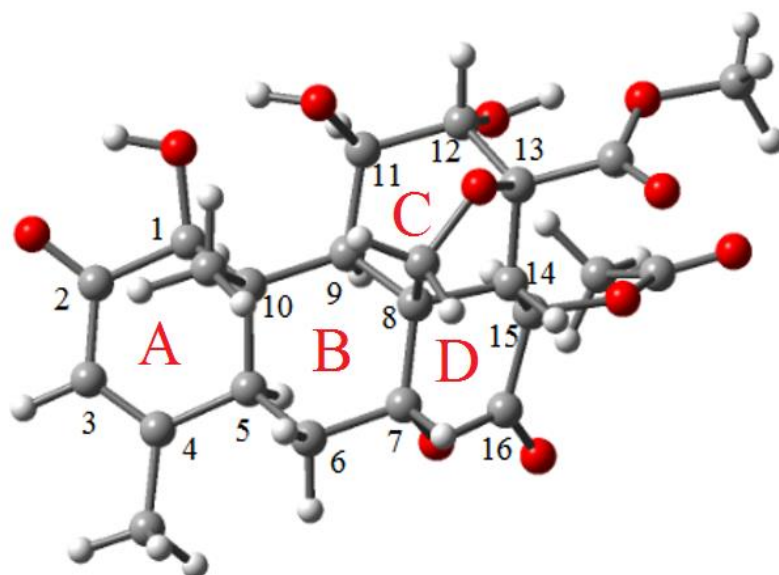


Figura 7. Estrutura isobruceína B com numerações. Fonte: Próprio autor.

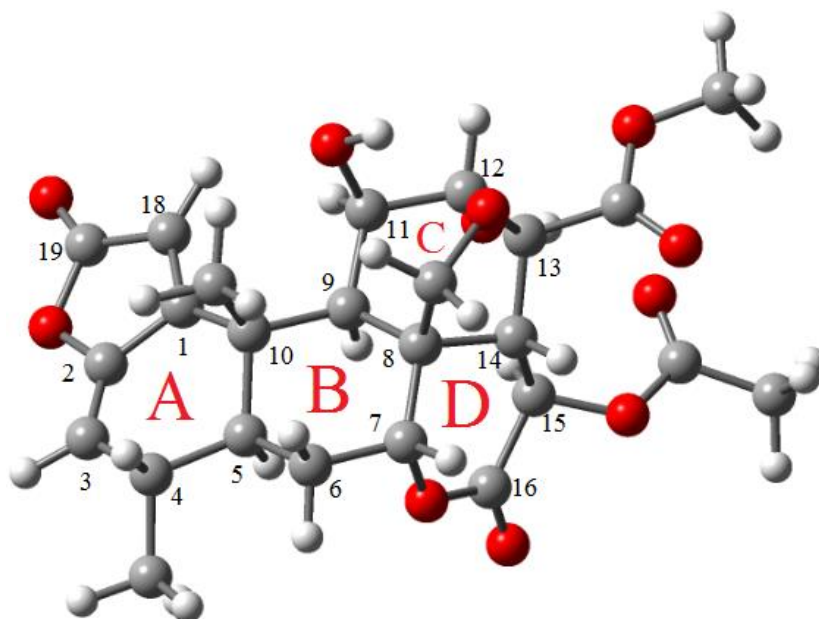


Figura 8. Estrutura neosergeolida com numerações. Fonte: Próprio autor.

Para ambas as estruturas, os anéis B e C possuem uma conformação de cadeira (conformação tridimensional livre de tensão). No entanto, os anéis C apresentam uma leve distorção devido à ponte de oximetileno (ligação entre o C8 e C13), verificada pelos ângulos de torção $99,80^\circ$ (C8-C13-C14) e $100,07^\circ$ (C8-C13- C14) para a neosergeolida e para a isobruceína B, respectivamente. Pelo fato de possuir a ponte de oximetileno na sua estrutura, ela é de suma importância no potencial biológico da isobruceína B e da

neosergeolida pois aumenta a potência antimalárica das moléculas (HOUEL et al., 2013), será discutido com maior detalhes esse ponto na seção 4.4.

4.2. Mapa de potencial eletrostático

Uma maneira de visualizar a distribuição de carga em uma molécula é com um mapa de potencial eletrostático (MEPS, sigla em inglês), um gráfico de potencial eletrostático que mostra uma superfície de densidade eletrônica constante. Através desse gráfico é possível visualizar pelas cores a diferença na concentração de elétrons em cada região. O MEP é uma ferramenta muito útil para prever o comportamento reativo das moléculas.

MEPS são úteis para visualizar os sítios existentes nas moléculas. A superfície resultante exhibe simultaneamente o tamanho molecular, forma e potencial eletrostático em termos de gradação de cor e é uma ferramenta muito útil na investigação da correlação entre estrutura molecular e relação das propriedades físico-química de moléculas incluindo biomoléculas e drogas. De acordo com a teoria do funcional da densidade, a MEPS é rigorosamente definida em termos de densidade eletrônica e evidentemente reflete contribuições opostas dos núcleos e dos elétrons.

Os diferentes valores do potencial eletrostático na superfície são representados por cores diferentes, o código de cores para os MEPS de ambas as estruturas está em unidades atômicas (au) e é indicado nas figuras 9 e 10. As regiões eletronegativas e eletropositivas são representadas pelas cores vermelha e azul respectivamente. As regiões vermelhas atraem uma espécie carregada positivamente ou repelem uma carga negativa. As regiões azuis são mais capazes em atrair elétrons de outra molécula. A cor verde no gráfico MEP indica as regiões neutras, ou seja, regiões com potencial intermediário. O potencial cresce de vermelho < amarelo < verde < azul.

De acordo com as figuras 7 e 9, no anel B temos três pontos de potencial positivo, na região do C5 (0,03606 a.u.), C6 (0,351233 a.u.) e C9 (0,0392973 a.u.). No anel C temos a região do H14 (0,0354663 a.u.) (H ligado ao O9). O ponto em torno dos átomos C15 e C14 (0,03863 a.u) indicam uma quantidade mínima de elétrons, consequentemente os mais desprotegidos e suscetíveis a ataques nucleofílicos. As regiões com potenciais negativos foram localizadas sobre o anel A, C e D nas regiões O10 (-0,03381 au), O8 (-0,02557 au), O9 (-0,04743 au), O7 (-0,04898 au), O1 (-0,03436 au), O2 (-0,04161 au),

O5 (-0,04713 au), O6 (-0,045107 au) e O4 (-0,04693). Sendo a região do O7 (-0,048988) o de maior concentração de elétrons.

De acordo com as figuras 8 e 10 os MEPS calculados para a neosergeolida indicaram regiões com potencial positivo sobre o anel B nas regiões do átomo C6 (0.03981 a.u.) e mais intenso no átomo C7 (0,04169 a.u.), essa região é a mais suscetível a ataques nucleofílicos. O anel de lactona (δ -valerolactona) da neosergeolida tem um valor potencial negativo principalmente na região do átomo O10 (-0,04984 a.u.) e O11 (-0,05864 a.u.). Na região do anel C é possível observar valores negativos na região do átomo O9 (-0,03003 a.u.) e no átomo O8 (-0,03446 a.u.) ambas hidroxilas que exercem forte eletronegatividade na região do anel C. No anel D a presença do átomo de O2 torna a região um potencial negativo (0,04576 a.u.).

Comparando a região dos átomos de carbono C1 e C2 de ambas as estruturas é possível notar que a presença do anel δ -valerolactona da neosergeolida torna a ligação entre C1 (0.00290439 a.u) e C2 (0.00819776 a.u) neutra. Por outro lado, na estrutura da isobruceína B a falta do anel δ -valerolactona e consequentemente de uma grande aproximação dos átomos de O10 e O11, C1 (0.0316769 a.u) e C2 (0.0336097 a.u) apresentam potenciais positivos.

O mapa de potencial MEPS da isobruceína B está representado na figura 10:

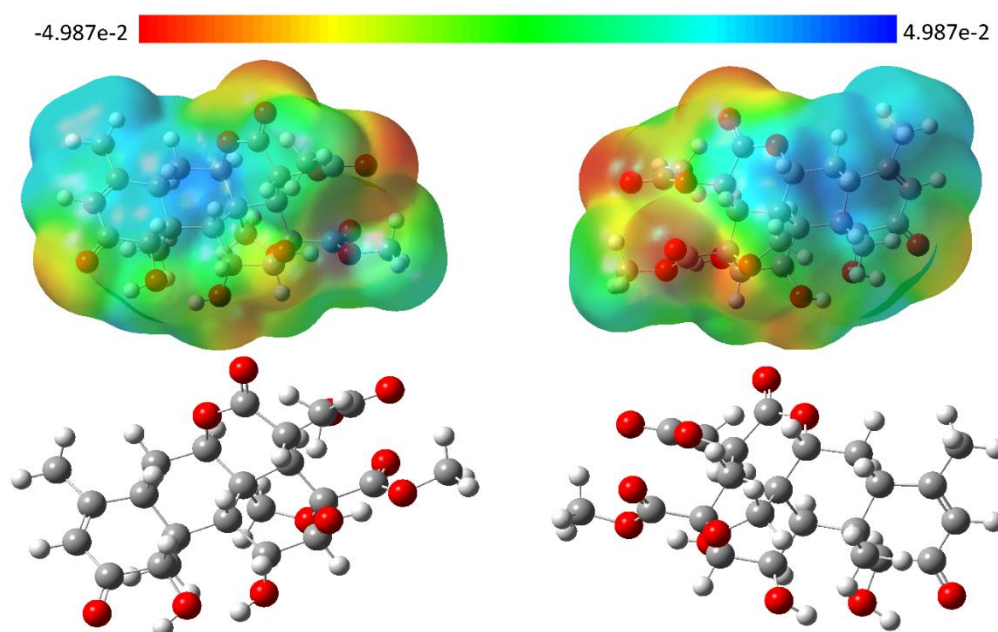


Figura 9. Mapa de potencial eletrostático molecular (MEP) da isobruceína B, utilizando o funcional de energia B3LYP e a base 6-311G (2d, p).

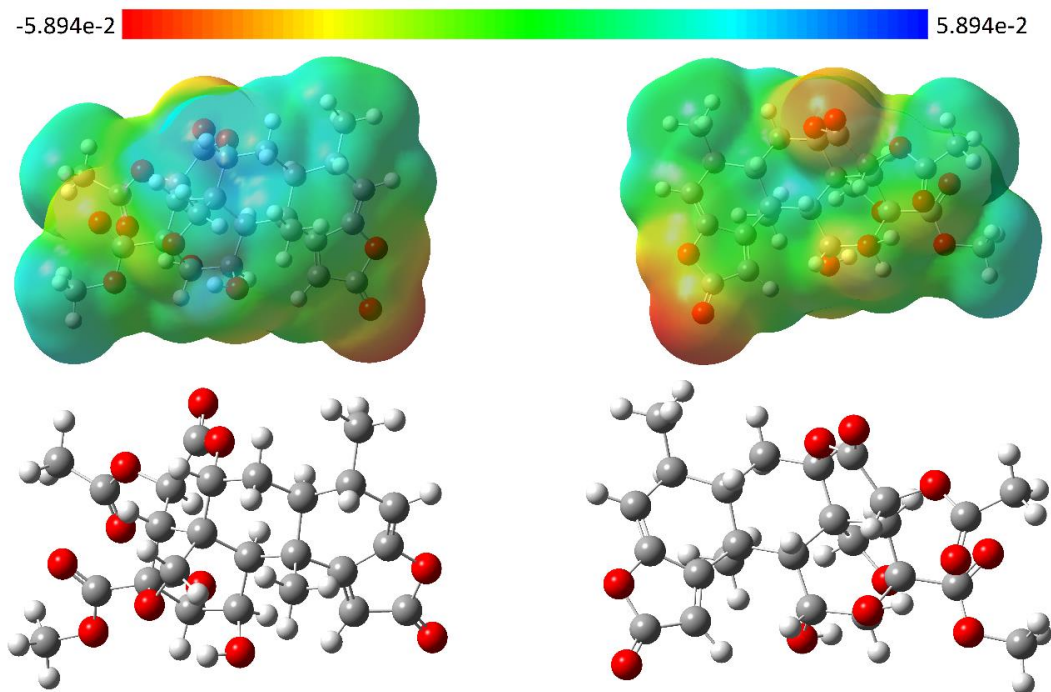


Figura 40. Mapa de potencial eletrostático molecular (MEP) da neosergeolida, utilizando o funcional de energia B3LYP e a base 6-311G (2d, p).

Com base na análise MEPS da isobruceína B, esses resultados fornecem informações sobre a região onde a molécula pode interagir para a formação de um dímero, ocorre nos átomos O9-H10 e O10-C2. Estes átomos formam ligações de hidrogênio que são confirmadas na seção 4.3 deste estudo. Um cálculo que permite demonstrar a possibilidade de formação de um dímero é a energia de interação (ΔE). Para a isobruceína B foi calculada como a diferença entre a energia do complexo dimérico e a soma das energias de cada monômero componente ($\Delta E = E_{\text{dimer}} - \sum E_{\text{monomer}}$). A estabilidade apresentada pela isobruceína B pode ser justificada pelo cálculo dos valores de ΔE que são -5,287 kcal / mol. Lembrando que valores negativos indicam um resultado espontâneo na termodinâmica. Essas interações intermoleculares são normais ainda se tratando de moléculas muito reativas carregadas de átomos de oxigênio. A utilização do Gaussian ajuda a interpretar em qual conjunto de átomos essa interação vai ocorrer e é justificada pelo resultado com valores de energia espontânea termodinamicamente.

Com base na análise MEPS da neosergeolida, esses resultados fornecem informações sobre a região onde a molécula pode interagir para a formação de um dímero, ocorre através do grupo de átomos O9-H14 e O11-C19. Estes átomos formam ligações de hidrogênio que são confirmadas na seção 4.3 deste estudo. Por meio da energia de

interação (ΔE) para a neosergeolida o resultado obtido foi de -4,902 kcal / mol. Lembrando que valores negativos indicam um resultado espontâneo na termodinâmica.

4.3. Infra-Vermelho (IV)

Um total de 153 modos de vibração normais foi obtido para a isobruceína B e 170 para a neosergeolida, mas apenas os modos entre 400-4000 cm^{-1} foram comparados com o espectro experimental, vide tabela 4 e 5. As figuras 11 e 12 mostram a comparação experimental e teórica dos espectros de IV, sendo possível observar no gráfico várias semelhanças nos espectros e algumas diferenças nas bandas mais próximas de 4000 cm^{-1} . As diferenças nos resultados podem ser atribuídas ao fato de que os cálculos teóricos de DFT foram feitos para as moléculas na fase gasosa, enquanto que experimentalmente não é possível ter o mesmo controle para todas as possíveis interações intermoleculares. Os resultados obtidos são muito próximos aos experimentais e alguns até mesmo iguais aos originais.

As bandas experimentais para os modos normais de vibração foram feitas pela distribuição de energia potencial calculada (PED) usando a estrutura otimizada da isobruceína B, neosergeolida e suas formas diméricas. Para obtenção de melhores resultados, foi utilizado um fator de escala de 0,96 e 0,98 (a fim de corrigir o valor calculado para se aproximar do valor experimental). Esse fator de escala é utilizado para diminuir os possíveis erros teóricos como um conjunto finito de bases e correlação eletrônica, na negligência do oscilador harmônico e aplicação de fatores genéricos de escala de frequência. Quando aplicado um fator de escala, este ajusta o resultado tornando-o confiável (MERRICK; MORAN; RADOM, 2007).

Para a isobruceína B (figura 11), na faixa mais próxima de 4000 cm^{-1} , a frequência observada na banda 3539 cm^{-1} mostra estiramento O-H correspondendo à frequência teórica de 3555,99 cm^{-1} . Bandas experimentais no intervalo de 3022-3001 cm^{-1} exibem estiramento C-C, correspondendo às frequências teóricas de 3028,46 cm^{-1} e 2999,39 cm^{-1} respectivamente. O intervalo de 2976 cm^{-1} a 2927 cm^{-1} corresponde ao estiramento de ligações simples de C-H, que no resultado teórico, os valores calculados são de 2979,43 cm^{-1} e 2929,32 cm^{-1} . O maior pico do espectro experimental é 1747 cm^{-1} , correspondendo

a um estiramento C = O, e seu valor teórico é $1747,55\text{ cm}^{-1}$. A banda experimental de 1626 cm^{-1} mostra um estiramento C=C no anel A correspondente ao número de onda escalonado $1632,91\text{ cm}^{-1}$.

As bandas experimentais entre 1626 cm^{-1} e 1295 cm^{-1} foram atribuídas aos modos de vibração de dobramento do HCH (1626 cm^{-1} , 1463 cm^{-1} , 1434 cm^{-1} e 1295 cm^{-1} correspondentes ao número de onda escalonado teórico $1632,91\text{ cm}^{-1}$, $1462,93\text{ cm}^{-1}$, $1433,29\text{ cm}^{-1}$ e $1294,80\text{ cm}^{-1}$ respectivamente), vibrações de dobramento de H-C-O 1378 cm^{-1} e 1317 cm^{-1} , correspondentes aos valores teóricos de $1377,03\text{ cm}^{-1}$ e $1317,38\text{ cm}^{-1}$, a vibração fora do plano CCCH (1317 cm^{-1} correspondente ao número de onda escalonado teórico $1317,38\text{ cm}^{-1}$) e vibração de torção HCCC (1343 cm^{-1} correspondendo ao número de onda escalonado teórico $1344,01\text{ cm}^{-1}$).

As bandas entre 1228 cm^{-1} e 933 cm^{-1} foram atribuídas OC (bandas na faixa de 1228 cm^{-1} , 1100 cm^{-1} , 1054 cm^{-1} , 1036 cm^{-1} , 991 cm^{-1} , 965 cm^{-1} e 933 cm^{-1} correspondendo ao número de onda escalonado teórico $1226,75\text{ cm}^{-1}$, $1102,15\text{ cm}^{-1}$, $1070,00\text{ cm}^{-1}$, $1041,41\text{ cm}^{-1}$, $995,78\text{ cm}^{-1}$, $966,22\text{ cm}^{-1}$ e $936,21\text{ cm}^{-1}$) e foram atribuídos H-C=O modo de dobramento (bandas na faixa de 1194 cm^{-1} correspondiam ao número de onda escalonado teórico $1190,18\text{ cm}^{-1}$). No intervalo de 761 cm^{-1} e 575 cm^{-1} foram atribuídos OCOC fora do plano (761 cm^{-1} , 710 cm^{-1} e 575 cm^{-1} correspondendo ao número de onda escalonado teórico $780,00\text{ cm}^{-1}$, $715,04\text{ cm}^{-1}$ e $574,03\text{ cm}^{-1}$). E quase no limite visível do espectro temos o valor experimental de 479 cm^{-1} , onde as vibrações foram atribuídas ao grupo HOCC do anel C, correspondente ao número de onda escalonado teórico $466,77\text{ cm}^{-1}$.

Concernente à frequência observada na faixa de 1747 cm^{-1} , referente à hidroxila do anel C e na faixa de 3539 cm^{-1} relacionado a carbonila do anel A. A análise do estudo teórico indica a formação de um dímero. Essa região da molécula se mostra mais suscetível a reações intermoleculares através da hidroxila e da carbonila no anel A. Quando a isobruceína B é calculada na forma dimérica, detém-se o valor da frequência na faixa de 1747 cm^{-1} e 3555 cm^{-1} , que é muito próxima do valor experimental, vide figura 11. Portanto, a formação de um dímero nessa posição é plenamente possível.

Para a neosergeolida foi observada a frequência de vibração de modo de estiramento da lactona C = O em $1755,75\text{ cm}^{-1}$ próximo do valor experimental em 1732 cm^{-1} . As principais bandas observadas no intervalo de 3576 cm^{-1} e 3356 cm^{-1} (atribuído

a 3576 cm^{-1} e 3037 cm^{-1} correspondendo ao número de onda escalonado teórico de $3543,72\text{ cm}^{-1}$ e $3037,03\text{ cm}^{-1}$).

As frequências observadas no intervalo de 2988 a 2888 cm^{-1} no trecho de ligação simples C-H foram atribuídas aos valores experimentais 2988 cm^{-1} , 2963 cm^{-1} , 2934 cm^{-1} e 2888 cm^{-1} que correspondem aos números de onda escalonados em $2986,60\text{ cm}^{-1}$, $2966,78\text{ cm}^{-1}$, $2932,20\text{ cm}^{-1}$, $2897,04\text{ cm}^{-1}$. O átomo C-21 corresponde à frequência 1719 cm^{-1} e a posição C-22 refere-se ao éster carbonílico ligado ao anel C correspondente à frequência 1751 cm^{-1} . A frequência experimental 1732 cm^{-1} refere-se à ligação do anel carbonil C = O que corresponde ao número de onda escalonado em $1755,75\text{ cm}^{-1}$.

O espectro experimental da neosergeolida revelou a vibração de alongamento de CO (grupo éter) no intervalo de 1205 cm^{-1} a 1023 cm^{-1} (atribuído às bandas de 1205 cm^{-1} , 1119 cm^{-1} , 1071 cm^{-1} , 1046 cm^{-1} , 1029 cm^{-1} , 1023 cm^{-1} que correspondem aos números de onda escalonados em $1206,54\text{ cm}^{-1}$, 1115 cm^{-1} , $1077,32\text{ cm}^{-1}$, $1048,44\text{ cm}^{-1}$, $1032,66\text{ cm}^{-1}$ e $1026,31\text{ cm}^{-1}$). Bandas no intervalo de 987 e 754 cm^{-1} foram atribuídas ao alongamento de OC (bandas a 987 cm^{-1} , 934 cm^{-1} e 754 cm^{-1} , correspondentes aos números de onda teóricos escalonados $987,31\text{ cm}^{-1}$, $937,76\text{ cm}^{-1}$ e $755,58\text{ cm}^{-1}$) e alongamento C = C (banda a 966 cm^{-1} correspondente ao número de onda teórico escalonado $961,92\text{ cm}^{-1}$). No intervalo entre 709 cm^{-1} e 432 cm^{-1} , foram atribuídas as bandas OCOC fora do plano (banda em 709 cm^{-1} , 644 cm^{-1} e 451 cm^{-1} correlacionam-se com o número de onda teórico escalado $712,95\text{ cm}^{-1}$, $652,57\text{ cm}^{-1}$ e $460,25\text{ cm}^{-1}$) e flexão CCC (banda em 594 cm^{-1} , 451 cm^{-1} e 432 cm^{-1} correlacionam-se com o número de onda teórico escalonados em $596,81\text{ cm}^{-1}$, $460,25\text{ cm}^{-1}$ e $434,72\text{ cm}^{-1}$).

Após análise de várias bandas, a faixa de 1732 cm^{-1} é referente à carbonila do anel de 5 membros (δ -valerolactona) e a faixa de 3576 cm^{-1} é relacionado a hidroxila (O9) do anel C se mostrou a mais reativa e disponível estericamente, essas duas mostraram melhor aproximação com o estudo experimental. Quando a neosergeolida é calculada na forma dimérica, detém-se o valor da frequência na faixa de 1755 cm^{-1} e 3543 cm^{-1} , um resultado próximo do valor experimental, vide figura 12. Portanto, a formação de um possível dímero é plenamente confirmada.

Tabela 4 - Valores de bandas experimentais, bandas teóricas calculadas (cm⁻¹) e atribuições vibracionais para a isobruceína B. Para obtenção de melhores resultados, foi utilizado um fator de escala de 0,98 (a fim de corrigir o valor calculado para se aproximar do valor experimental).

IV Experimental	Comprimento de onda calculados	B3LYP 6-311G (2d,p) Comprimento de onda escalonado	Intensidade	PED >5%
3539	3628,57	3555,99	1808,7002	Estiramento O11-H11 (99%)
3436	(DIMERO) 3596,49	(DIMERO) 3452,64	162,884	Estiramento O11-H11 (100%)
3022	3154,65	3028,46	7,4716	Estiramento C18-H17 (84%)
3001	3124,37	2999,39	27,6341	Estiramento C17-H20 (11%) + Estiramento C19-H19 (84%)
2976	3103,58	2979,43	12,4021	Estiramento C18-H18 (17%)+ Estiramento C6-H7 (73%)
2955	3068,52	2945,77	19,2904	Estiramento C18-H18 (74%)+ Estiramento C6-H7 (11%)
2927	3051,38	2929,32	18,786	Estiramento C12-H12 (90%)
2900	3021,34	2900,48	4,5767	Estiramento C14-H14 (91%)
1747	1820,37	1747,55	654,692	Estiramento C2=O10
1626	(DIMERO) 1666,24	(DIMERO) 1632,91	47,2241	Estiramento C1-C10 (43%) + Dobramento H1-O11-C1 (15%)
1463	1492,79	1462,93	14,581	Dobramento H24-C24-H25 (57%) + Dobramento H26-C24-H25 (18%)
1434	1462,31	1433,29	28,3829	Dobramento H6-C6-H4 (70%)
1378	1405,25	1377,03	42,2772	Dobramento H9-O9-C11 (15%)
1343	1371,53	1344,01	31,7085	Dobramento H9-C9-C10 (10%) + Torção H14-C14-C13-C12 (19%)
1317	1344,27	1317,38	9,3048	Dobramento H12-C12-O8 (21%) + Fora do plano C13-C20-C11-H11 (16%)
1295	1321,23	1294,80	39,0943	Dobramento H1-O11-C1 (16%) + Dobramento H2-C1-O11 (11%)
1228	1251,79	1226,75	135,771	Estiramento O3-C23 (21%)
1219	1245,23	1220,32	22,6964	Estiramento C15-C16 (11%)
1194	1214,48	1190,18	9,2091	Dobramento H13-C3=C4 (17%) + Dobramento C4=C3-C2 (13%)
1155	1178,39	1154,82	3,4424	Torção H19-C19-C10-C9 (10%)
1100	1124,65	1102,15	86,994	Estiramento O8-C12 (11%)
1054	1091,84	1070,00	162,588	Estiramento O3-C15 (43%)
1036	1062,67	1041,41	25,2183	Estiramento O7-C13 (42%) + Estiramento C12-C13 (12%)
991	1016,11	995,78	122,0921	Estiramento O7-C17 (22%)
965	985,94	966,22	18,128	Estiramento O9-C11 (16%)
933	955,36	936,21	7,5402	Estiramento O6-C21 (18%)
898	923,41	904,94	6,6057	Fora do plano O10=C2-C3-C4 (19%)
827	832,85	816,19	5,972	Dobramento C4=C3-C2 (18%)
761	795,92	780,00	1,5413	Fora do plano O5=C20-O6-C21 (35%)
710	729,64	715,04	11,340	Fora do plano O2=C16-O1-C15 (12%)
652	667,67	654,31	19,067	Estiramento C23-C24 (11%)
575	585,75	574,03	32,888	Torção H24-C24-C23-O3 (27%) + Fora do plano O4=C23-O31-C33 (45%)
500	516,13	505,80	4,835	Dobramento O4=C23-C24 (23%)
479	476,30	466,77	49,566	Torção H11-O11-C1-C10 (33%)

Tabela 5 - Valores de bandas experimentais, bandas teóricas calculadas (cm⁻¹) e atribuições vibracionais para a neosergeolida. Para obtenção de melhores resultados, foi utilizado um fator de escala de 0,98 (a fim de corrigir o valor calculado para se aproximar do valor experimental).

IV Experimental	Comprimento de onda calculados	B3LYP 6-311G (2d,p) Comprimento de onda escalonado	Intensidade	PED >5%
3576	3691,38	3543,72	292,90	Estiramento O9-H14 (100%)
3037	(DIMERO) 3164,58	(DIMERO) 3037,03	1,7283	Estiramento C24-H27 (81%) + Estiramento assimétrico. C9-H9 (9%)
2988	3111,05	2986,60	3,5069	Estiramento C23-H25(87%) + Estiramento C23-H26 (11%)
2963	3090,40	2966,78	26,0375	Estiramento C25-H16 (92%)
2934	3054,38	2932,20	27,7616	Estiramento C24-H21 (55%) + Estiramento C6+H7 (27%)
2888	3017,75	2897,04	2,2009	Estiramento C9-H9 (39%) + Estiramento C5-H5 (51%)
1777	1855,63	1781,40	639,381	Estiramento O11=C19 (89%)
1732	1828,91	1755,75	678,4533	Estiramento O11=C19 (87%)
1719	(DIMERO) 1762,97	(DIMERO) 1727,71	166,4733	Estiramento O5=C19 (86%)
1638	1724,35	1689,86	82,283	Estiramento C3=C4 (84%)
1594	1623,50	1591,03	58,9622	Dobramento H24-C24-H23 (25%) + Dobramento H17-C17-H16 (47%)
1436	1470,93	1441,51	14,8691	Dobramento H23-C23-H24 (57%) + Dobramento H25-C23-H26 (16%) + Torção H23-C23-C22=O4 (10%)
1316	1343,88	1317,00	19,4298	Dobramento H5-C5-C6 (87%)
1268	1295,17	1269,26	134,0791	Torção H4-C4-C3=C18 (27%)
1257	1283,65	1257,97	21,3410	Estiramento C13-C14 (10%)
1223	1254,58	1229,48	46,9861	Dobramento H12-O8-C12 (13%) + Dobramento H11-O9-C11 (17%) + Dobramento H12-C10-O8 (13%) + Fora do plano C11-C12-C13-H13 (11%)
1205	1231,17	1206,54	130,9667	Dobramento H7-C7-O1 (24%)
1172	1203,49	1179,42	150,0578	Estiramento O5=C20 (29%)
1119	1137,86	1115,10	45,4185	Estiramento O6=C21 (26%)
1105	1128,86	1106,28	42,4970	Dobramento H13-C11-O9 (14%)
1071	1099,31	1077,32	62,576	Estiramento O9=C11 (47%)
1046	1069,84	1048,44	8,9632	Estiramento O3=C15 (58%)
1029	1053,74	1032,66	73,2877	Estiramento O6=C21 (21%)
1023	1047,26	1026,31	12,2469	Estiramento O7=C20 (17%) + Estiramento O6=C21 (44%)
987	1007,46	987,31	6,2073	Estiramento O1-C7 (16%)
966	981,55	961,92	10,401	Estiramento C57=C58 (12%) + Torção H61-C1=C2-C5 (14%)
934	956,90	937,76	27,4882	Estiramento C4-C25 (11%) + Estiramento O7-C17 (24%) + Estiramento C25-H23 (12%)
842	862,41	845,16	17,201	Torção H18-C18=C3-C4 (42%) + Torção H2-C1=C2-C3 (25%)
754	771,00	755,58	5,3165	Estiramento O6-C20 (13%) + Dobramento O5=C20-O6 (34%) + Dobramento C40-O6-C21 (11%)
709	727,51	712,95	2,4620	Fora do plano O5-C13-O6-C20 (39%)
644	665,89	652,57	1,4520	Fora do plano O11=C18-O10-C19 (18%)
594	608,99	596,81	8,9820	Dobramento C19-C18=C3 (11%)
522	536,91	526,17	20,6061	Dobramento O11=C1-O10 (14%)
451	469,65	460,25	0,666	Dobramento C24-C10-C5 (18%) + Out C25-C4-C3-C5 (14%)
432	443,60	434,72	10,8879	Dobramento C23-C22-O3 (18%)

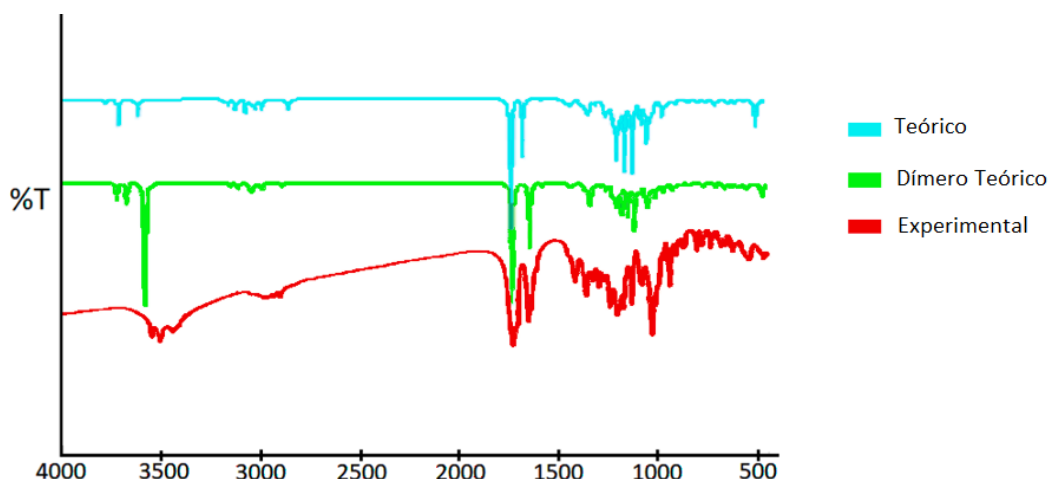


Figura 11. Espectros teóricos e experimental de IV da isobruceína B. A linha vermelha representa as bandas experimentais, linha azul representa as bandas teóricas e linha verde representa as bandas teóricas do dímero de isobruceína B.

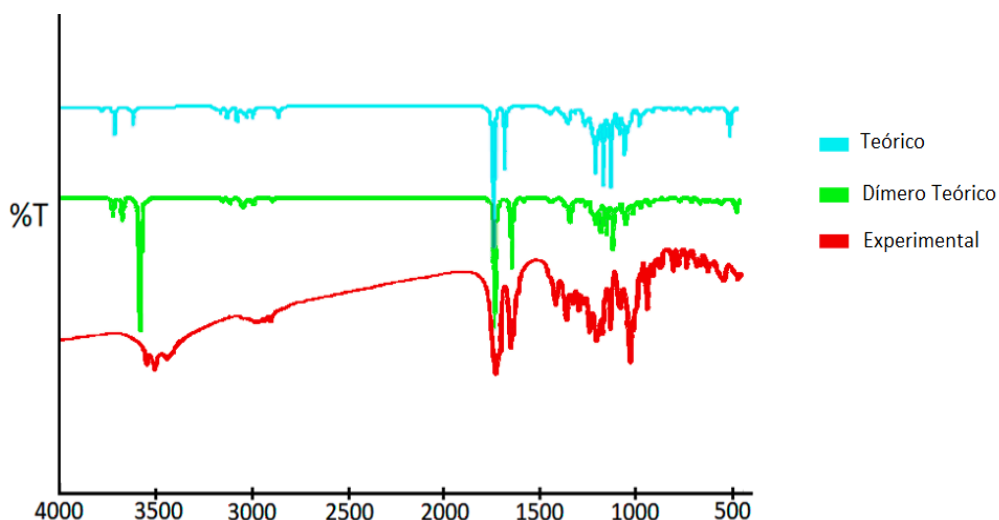


Figura 12. Espectros teóricos e experimental de IV da neosergeolida. A linha vermelha representa as bandas experimentais, linha azul representa as bandas teórica e linha verde representa as bandas teóricas do dímero da neosergeolida.

4.4. Análise HOMO-LUMO.

O gap de energia entre o HOMO (Orbital Molecular Ocupado de Maior Energia) e o LUMO (Orbital Molecular Desocupado de Menor Energia) é muito importante para determinar as propriedades elétricas, estabilidade cinética, polarizabilidade óptica e descritores de reatividade química, como dureza e maciez, de uma molécula. O conceito de dureza (η) está relacionado à reatividade de um composto e é uma propriedade que mede a extensão da reatividade química à qual a adição de uma carga estabiliza o sistema (equação 61). O potencial químico (μ) fornece um índice de reatividade global e está relacionado à transferência de carga de um sistema de maior potencial químico para um

de menor potencial químico (equação 61). A eletronegatividade (χ) é o poder de atrair elétrons que é igual a parte negativa do potencial químico. Outro importante descritor é o índice de eletrofilicidade (ω), um índice de reatividade global que mede a redução de energia devido à transferência de carga, que define uma classificação quantitativa da natureza eletrofílica global de uma molécula Parr (62) (CARLSON; KELLER, 1957; CARPENTER; WEINHOLD, 1988).

$$\eta = \frac{(I-A)}{2} \quad (60)$$

$$\mu = \frac{-(I+A)}{2} = -\chi \quad (61)$$

$$\omega = \mu^2/2n \quad (62)$$

Onde A é a afinidade eletrônica e I é igual ao potencial de ionização da molécula, a afinidade eletrônica e o potencial de ionização são obtidos através das energias de orbitais HOMO-LUMO, enquanto $I = -E_{\text{HOMO}}$ e $A = -E_{\text{LUMO}}$. Todas estas propriedades foram calculadas para a isobruceína B e a neosergeolida usando as equações no nível do funcional da energia de troca e correlação B3LYP e base 6-311G (2d, p) e os valores obtidos estão na tabela 6.

Tabela 6 - Valores de energia calculados para a neosergeolida e isobruceína B usando o método B3LYP e o conjunto de base 6-311 (2d, p).

Parâmetros	Neosergeolida	Isobruceína B
Energia (A.u)	-1797.4791	-1721.2415
E_{HOMO} (eV)	-2.0022	-7.1843
E_{LUMO} (eV)	-6.6333	-2.2239
$E_{\text{HOMO-LUMO}}$ (eV)	4.63	4.96
$E_{\text{HOMO-1}}$ (eV)	-7.4515	-7.4080
$E_{\text{LUMO+1}}$ (eV)	-0.9164	-0.6917
$E_{(\text{HOMO-1})-(\text{LUMO+1})}$ (eV)	6.5351	6.7163
Dureza (η)	2.31	2.48
Potencial químico (μ)	-4.318	-4.7041
Índice de eletrofilicidade (ω)	4.02	4.46

Em relação ao gap de energia HOMO-LUMO, o quassinóide neosergeolida tem o menor valor comparado a isobruceína B (diferença de 0,33 eV), indicando que a neosergeolida seja mais reativa. De fato, a adição do anel de lactona reduz o gap de energia HOMO-LUMO, este estudo sugere que o anel perde sua estabilidade quando

adicionado átomos de oxigênio e isso influencia diretamente os descritores de reatividade e, portanto, pode influenciar em suas propriedades farmacológicas.

Os valores calculados de dureza (η) da neosergeolida (2,31 eV) e da isobruceína B (2,48 eV) mostram que a neosergeolida é uma molécula ligeiramente mais macia e reativa do que a isobruceína B, confirmando as evidências obtidas pelo cálculo do gap energético. Portanto a neosergeolida apresenta alta polarizabilidade devido ao seu valor de dureza (η). Comparando estes valores de dureza com o calculado para outras moléculas orgânicas conhecidas, dureza: terpenos(≈ 6)>Flavonoides(≈ 3)>Alcaloides aromáticos(≈ 2) os quassinóides apresentam resultados entre flavonoides e alcaloides aromáticos. (COSTA et al.,2018; BRANCHES et al., 2018). Em relação aos índices de eletrofilicidade (ω) esses quassinóides apresentam um grande potencial de atração entre os elétrons. Vide na figura 13 os orbitais moleculares de fronteira de ambas as estruturas.

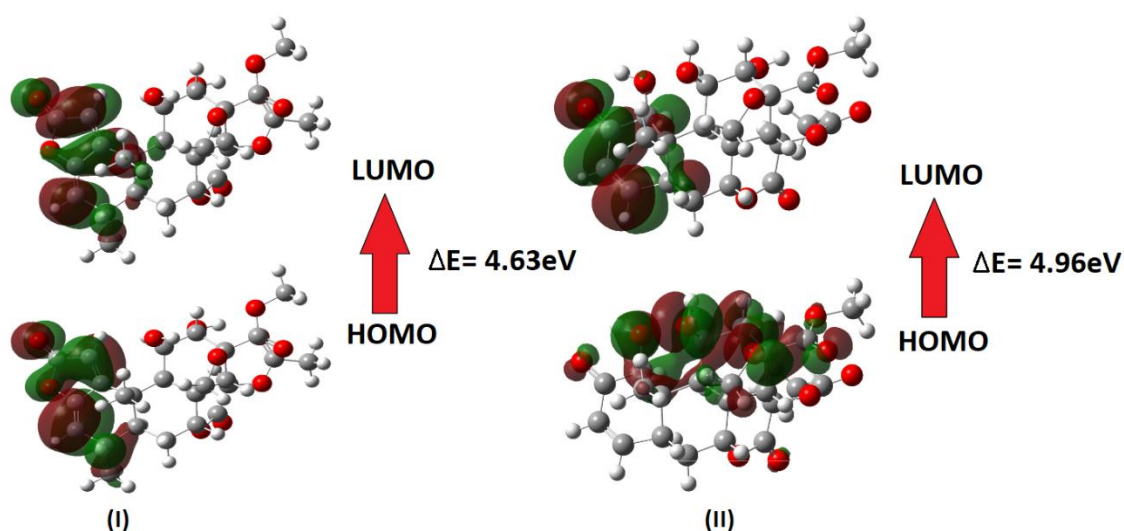


Figura 13. Orbitais moleculares de fronteira da neosergeolida e isobruceína B.

4.5. Análises NBO (Padrão de ligação molecular tipo-Lewis de pares de elétrons)

A análise da NBO (orbital de ligação natural) reporta o padrão de ligação molecular tipo-Lewis de pares de elétrons (ou de elétrons simples no caso de casca aberta) em formato otimizado de forma compacta. Os NBOs determinam a representação localizada da Estrutura de Lewis Natural (NLS) da função de onda, enquanto os NBO

restantes do tipo "não-Lewis" completam a extensão da base e descrevem os "efeitos de deslocalização" residuais pelas energias de perturbação de segunda ordem $E^{(2)}$ e também fornece uma base apropriada para explorar a transferência de carga ou interação conjugativa em sistemas moleculares

$$E(2) = \sum_{ij} q_i \frac{F_{ij}^2}{\epsilon_j - \epsilon_i}$$

Onde q_i é o orbital doador ocupado, ϵ_i e ϵ_j são elementos diagonais e $F(ij)$ é o elemento da matriz externa diagonal Fock.

Para a isobruceína B e a neosergeolida, a análise dos valores das energias de perturbação de segunda ordem revelam que os valores das grandes conjugações são $\pi \rightarrow \pi^*$ e hiperconjugações $LP \rightarrow \pi^*$. As principais hiperconjugações para $LP \rightarrow \sigma^*$ da isobruceína B é $O4 \rightarrow O3-C22$, para a neosergeolida $O11 \rightarrow C10-C19$ e a hiperconjugação $LP \rightarrow \sigma^*$ $O4 \rightarrow O3-C22$ na estrutura isobruceína B. As regiões sobre O2 e O4 são regiões negativas, e esses átomos de oxigênio se estabilizam por meio de ligações de hidrogênio intramoleculares. Assim, justificam-se pela forte interação hiperconjugativa $O4 \rightarrow O3-C22$ (35,92 kcal / mol), $O3 \rightarrow C22-O4$ (37,44 kcal / mol) na isobruceína B e na neosergeolida $O2 \rightarrow O1-C16$ (31.43 kcal/mol).

As interações intramoleculares hiperconjugativas do tipo $\sigma \rightarrow \sigma^*$ da isobruceína B são predominantes e contribuem para a estabilização dos sistemas; destacando as seguintes interações $C1-H1 \rightarrow C2-C3$ (6,26 kcal / mol), $C1-C2 \rightarrow C2-C3$ (5,84 kcal / mol), $C5-H5 \rightarrow C11-O9$ (5,16 kcal / mol), $C19-H19 \rightarrow C17-H17$ (18,82 kcal / mol), $C17-H25 \rightarrow C19-H19$ (5,20 kcal / mol), $C15-O3 \rightarrow C19-H19$ (4,03 kcal / mol), $C23-H23 \rightarrow O3-C22$ (6,05 kcal / mol), $C18-C19-C3-C4$ (9.38 kcal / mol). Na neosergeolida temos $C2-C3 \rightarrow C1-C2$ (4.85 kcal/mol), $C3-H3 \rightarrow C1-C2$ (6.40 kcal/mol), $C18-C19 \rightarrow C10-C1$ (8.80 kcal/mol), $C22-C23 \rightarrow O3-C23$ (4.95 kcal/mol), $C23-H25 \rightarrow C23-H24$ (10.72 kcal/mol), $C4-C3 \rightarrow O10-C2$ (7.29 kcal/mol), $C1-C2 \rightarrow C18-H22$ (5.25 kcal/mol), $C1-C18 \rightarrow C10-C1$ (5.02 kcal/mol). A tabela 7 e 8 fornecem todos os valores significativos das interações hiperconjugativas dadas pela teoria de perturbação de segunda ordem.

Tabela 7 - Energias de perturbação de segunda ordem selecionadas da Isobruceína B.

Orbital doador (i)	Tipo de orbital	Orbital receptor (j)	Tipo de orbital	$E^{(2)}$ (kcal/mol)
C19-H19	σ	C17-H17	σ^*	18,82
C17-H25	σ	C19-H19	σ^*	5,20
C15-O3	σ	C19-H19	σ^*	4,03
C16-O2	π	C23-H23	σ^*	7,31
C23-H23	σ	O3-C22	σ^*	6,05
C3-C18	π	C19-O11	π^*	29,83
C3-C18	π	C1-C2	π^*	16,79
C18-C19	σ	C3-C4	σ^*	9,38
C1-C2	σ	C2-C3	σ^*	5,84
C1-C10	σ	C2-O10	σ^*	7,37
O8	LP	C12-H12	σ^*	6,90
O9	LP	C19-H19	σ^*	12,97
O1	LP	C16-O2	π^*	20,38
O2	LP	C16-O1	σ^*	32,21
O3	LP	C22-O4	π^*	48,45
O4	LP	C22-O3	σ^*	13,78
O5	LP	C20-O6	σ^*	31,54
O6	LP	C20-O6	π^*	54,50
O10	LP	C19-O11	π^*	46,53
O11	LP	C19-O10	σ^*	41,50
C5-H5	σ	C11-O9	σ^*	5,16
C15-H15	σ	C16-O2	π^*	4,61
C4-H52	σ	C3-C18	π^*	6,50
C1-C10	σ	C2-O10	σ^*	6,75
C1-H1	σ	C2-C3	σ^*	6,26
O7	LP	C12-C13	σ^*	6,22
O7	LP	C17-H17	σ^*	5,87
C5-H5	σ	C1-C6	σ^*	4,38
O2	LP	C3-C4	π^*	27,47

Tabela 8 - Energias de perturbação de segunda ordem selecionadas da Neosergeolida.

Orbital doador (i)	Tipo de orbital	Orbital receptor	Tipo de orbital	$E^{(2)}$ (kcal/mol)
O10-C19	σ	C2-C3	σ^*	4,01
C9-H9	σ	09-C11	σ^*	4,59
C10-C5	σ	C1-C18	π^*	4,42
C10-C1	σ	C1-C18	σ^*	4,82
C10-C24	σ	C1-C18	π^*	4,32
C7-H7	σ	C8-C9	σ^*	4,88
C11-H11	σ	C8-C9	σ^*	4,02
C17-H12	σ	C8-C9	σ^*	4,10
C6-H5	σ	O1-C7	σ^*	4,50
C4-C3	σ	O10-C2	σ^*	7,29
C1-C2	σ	C2-C3	σ^*	4,92
C1-C2	σ	C18-H17	σ^*	5,25
C1-C18	σ	C10-C1	σ^*	5,02
C1-C18	σ	O10-C19	π^*	22,42
C1-C18	π	C2-C3	π^*	14,44
C24-H23	σ	O9-H12	σ^*	7,10
C2-C3	π	C1-C18	π^*	14,01
C23-H23	σ	C23-H22	σ^*	10,72
O1	LP	O2-C16	π^*	34,94
O2	LP	O1-C16	σ^*	31,43
O3	LP	O4-C22	π^*	33,23
O4	LP	O3-C22	σ^*	29,30
O6	LP	O7-C20	σ^*	32,62
O7	LP	O6-C20	π^*	48,27
O8	LP	C12-H9	σ^*	6,88
O9	LP	C11-C12	σ^*	7,12
O10	LP	O11-C19	π^*	35,31
O11	LP	O10-C19	σ^*	37,88
O11-C19	π	C1-C18	π^*	80,41

4.6. Análise Ultra-Violeta (UV)

O espectro experimental da substância, em solução de metanol, foi comparado ao espectro calculado utilizando o funcional de densidade dependente do tempo usando B3LYP e base 6-311G (2d, p) estabelecido em metanol (via PCM) como mostrado na Fig. 14 para a isobruceína B.

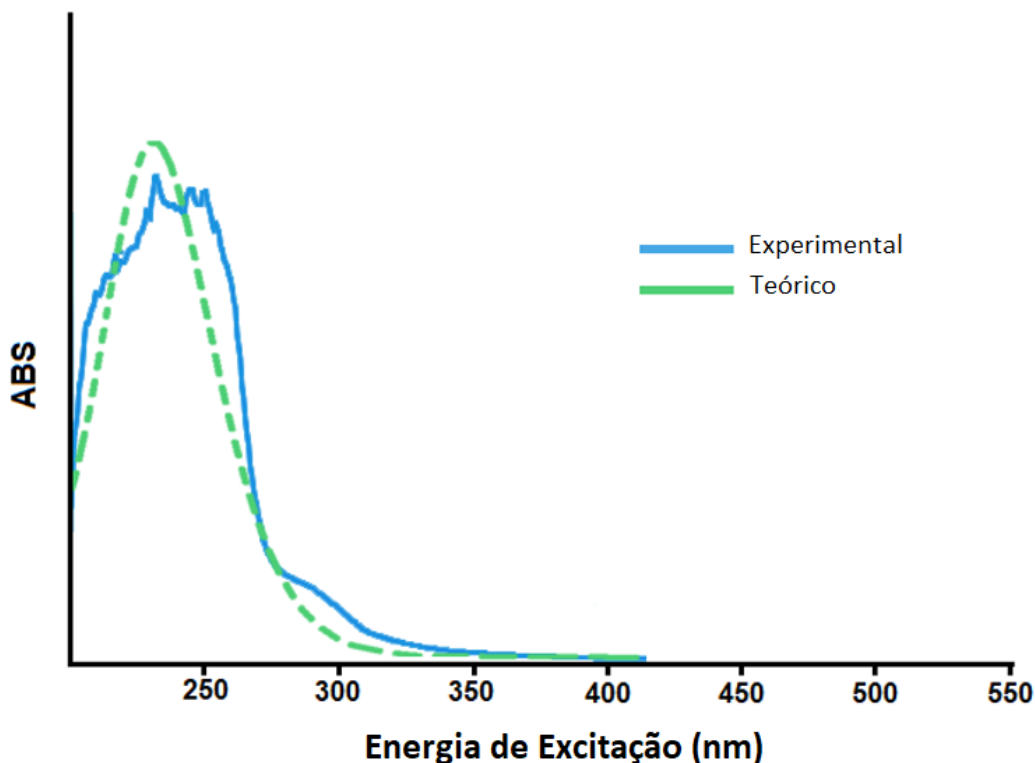


Figura 14. Comparação entre espectro de UV experimental e teórico da isobruceína B. Abordagem teórica utilizada foi B3LYP 6-311G (2d, p) em metanol.

O espectro experimental da isobruceína B revelou bandas em 232, 245 e 250 nm (faixa de comprimento de onda unidade nanômetro). O espectro teórico apresentou uma intensa transição eletrônica de 5,35 eV em 231,41 nm (força do oscilador $f = 0,1993$) com contribuições importantes de $H-7 \rightarrow L$ (67,1%) e $H-3 \rightarrow L$ (16%), o que equivale a banda experimental em 232,31 nm. Os cálculos também mostraram transições eletrônicas intensas em 245,47 nm (5,059 eV) com contribuições de $H-7 \rightarrow L$ (13%) e $H-3 \rightarrow L$ (78%), sendo igual ao experimental. Outra transição eletrônica intensa observada no espectro teórico é de 253,02 nm (4,90 eV), com contribuições importantes de $H-4 \rightarrow L$ (20%) e $H \rightarrow L$ (69%), sendo equivalente à banda experimental a 250,57 nm.

Em relação ao espectro experimental da neosergeolida, em solução de acetona foi comparado ao espectro calculado utilizando o funcional de densidade dependente do

tempo usando B3LYP e base 6-311G (2d, p) estabelecido em acetona (modelo PCM) como mostrado na Fig. 15 para a neosergeolida. A única e destacável diferença aqui observada em comparação a isobruceína B, é a utilização do solvente acetona. Em relação aos resultados, o uso da acetona aproxima o valor teórico do experimental, pois a acetona solubiliza de maneira mais eficiente a neosergeolida. No caso se fosse usado um solvente diferente o resultado não seria tão próximo quanto da acetona, como podemos observar na figura 16 onde foi utilizado como solvente o metanol.

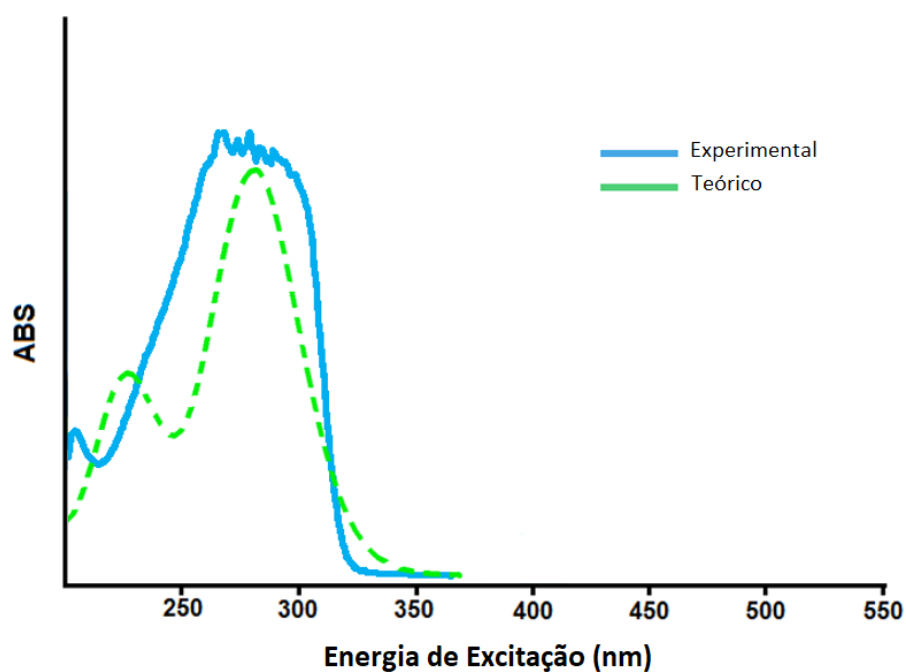


Figura 15. Comparação entre espectro de UV experimental e teórico da neosergeolida. Abordagem teórica utilizada foi B3LYP 6-311G (2d, p) em acetona.

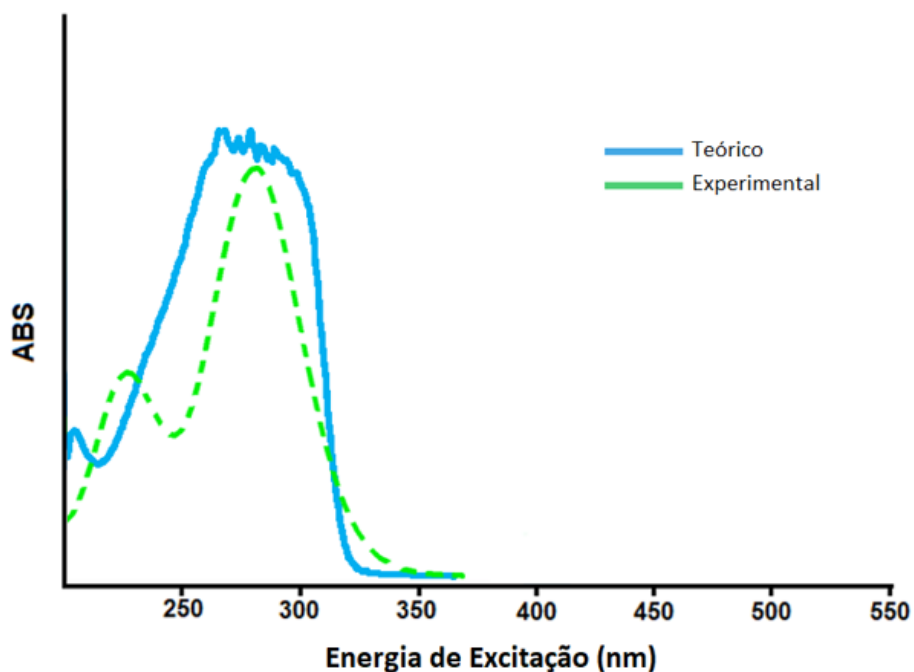


Figura 16. Comparação entre espectro de UV experimental e teórico da neosergeolida. Abordagem teórica utilizada foi B3LYP 6-311G (2d, p) em metanol.

O espectro experimental da neosergeolida revelou bandas em 270, 279 e 285 nm. O espectro teórico apresentou uma intensa transição eletrônica de 4,54 eV em 272,56 nm (força do oscilador $f = 0,0095$) com contribuições importantes de $H-4 \rightarrow L$ (25,9%) e $H-2 \rightarrow L$ (60,5%), o que equivale a banda experimental em 270,09 nm. Os cálculos também mostraram transições eletrônicas intensas em 276,5 nm (4,48 eV) com contribuições de $H-6 \rightarrow L$ (4,32%) e $H-4 \rightarrow L$ (47,3%), sendo equivalente a banda experimental 279,56 nm. Outra transição eletrônica intensa observada no espectro teórico é de 283,94 nm (4,36 eV), com contribuições importantes de $H-1 \rightarrow L$ (55,6%) e $H \rightarrow L$ (23,7%), sendo equivalente à banda experimental a 285,26 nm.

4.7 Estudo do docking molecular

Estudos modernos sobre drogas antimaláricas tradicionalmente expõem plantas que produzem alcaloides indólicos e isoquinolínicos, sesqui-, di-, triterpenos como quassinóides e outros compostos com estruturas similares. Isobruceína B e a neosergeolida como relatados na introdução desse trabalho apresentam atividades antimaláricas comprovadas experimentalmente. O docking foi executado individualmente para o fármaco padrão (Pyl), para a isobruceína B e a neosergeolida, estes como ligantes e o receptor DHFR, esse procedimento está destacado na seção 2.5 desse trabalho.

Após a realização do docking molecular se faz necessário verificar em termos de energia e ligações de hidrogênio as conformações do complexo docking (ligante e receptor). Lembrando que valores negativos indicam um resultado espontâneo na termodinâmica. A energia livre de ligação (ΔG) analisada através do cálculo de docking da isobruceína B apresenta o valor de docking -8,3 kcal/mol, já a neosergeolida apresenta valor de -9,3 kcal/mol, enquanto a Pyl, que é um fármaco utilizado no combate às infecções por protozoários e é geralmente usado no tratamento e prevenção da malária, mais especificamente contra o *Plasmodium vivax e falciparum* (KONGSAEREE et al., 2005), obteve um valor ΔG de -7,5 kcal/mol. Portanto os dois quassinóides analisados obtiveram um melhor resultado que o próprio inibidor comercial da enzima. Este resultado sugere que a isobruceína B e a neosergeolida podem ser consideradas como uns bons compostos no desenvolvimento de novos inibidores de DHFR. Visto que o DHFR é uma enzima que catalisa a redução do diidrofolato dependente de NADPH para tetra-hidrofolato. Essa reação é essencial para a síntese de purinas e certos aminoácidos, tornando a enzima mais resistente a medicações (BILSLAND et al., 2018). Inibindo o DHFR diminui a quantidade de purinas e consequentemente o *P.vivax* é eliminado do hospedeiro. Um questionamento importante é saber como ocorre essa inibição, a interação dos quassinóides com a enzima.

De acordo com a figura 17 as interações entre o ligante isobruceína B e a enzima DHFR ocorrem por meio de ligações não-covalentes fracas dos tipos: grupos alquila não covalente alquil-alquila, sulfanilamida-alquila, interações alquila- π e com ligações de hidrogênio. Observando a figura 18, no complexo-ligante-proteína da isobruceína B e o complexo DHFR é possível analisar e observar onde exatamente ocorrem as interações moleculares. O anel A interage com o aminoácido LEU45 (leucina) por interação alquil-alquil, também interage com o aminoácido PRO122 (prolina) através da região oxigenada do anel por uma interação alquil- π , e o grupo metil do anel A interage com o aminoácido CY549 (cisteína) através de uma interação alquil-alquil. O anel C da isobruceína B interage com o aminoácido ILE121 (isoleucina) por uma interação alquil-alquila, outra interação no anel C ocorre com o aminoácido SER120 (serina) por uma fraca ligação de hidrogênio. O anel D interage com o MET54 (metionina) por uma interação alquil-sulfanilamida. O grupo éster ligado ao anel C interage com o ILE173 (isoleucina) por meio de interações alquilo-alquilo e o grupo OCOCH₃ ligado ao anel D interage com o PHE57 (fenilalanina) por meio de interações alquil- π . Analisando as interações, pode-se

observar a presença unânime da ligação de hidrogênio na isobruceína B, esta interação ocorre entre o O9 no anel C com o aminoácido LEU45, essa ligação de hidrogênio promove uma boa estabilidade nesse complexo isobruceína B/DHFR do que as outras interações já descritas (alquil-alquila). Todos esses dados comprovam que a isobruceína B interage e inibe de maneira satisfatória a DHFR.

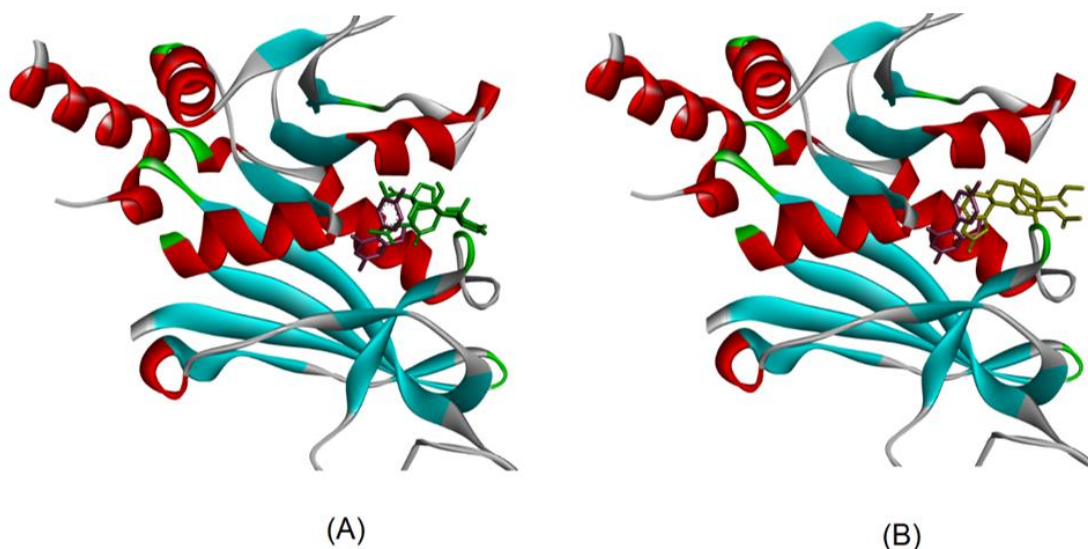


Figura 17. Modos de ligação da isobruceína b e da neosergeolida dockados ao complexo Dihidrofolato Redutase de *Plasmodium vivax*. (A) Sobreposição da isobruceína B atracada (verde) e estrutura co-cristalizada da pirimetamina (roxo); (B) Sobreposição da neosergeolida atracada (amarela) e estrutura co-cristalizada da pirimetamina (roxo).

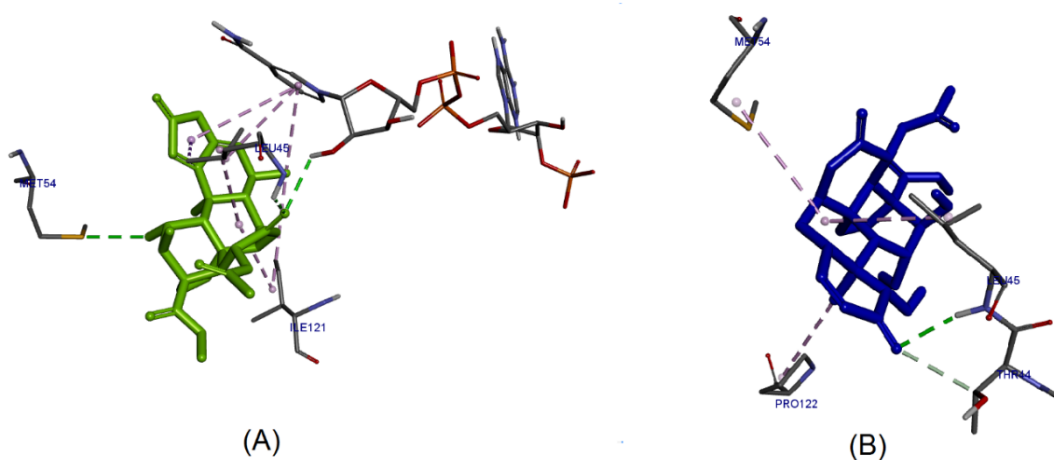


Figura 18 (A) Interações complexo-ligante-proteína da neosergeolida e o complexo *Plasmodium vivax* Dihidrofolate redutase. As esferas são regiões de interação entre os átomos do ligante e os grupos do complexo plasmático de DHFR; (B) Interações complexo-ligante-proteína da

isobruceína B e o complexo *Plasmodium vivax* Dihydrofolate redutase. As esferas são regiões de interação entre os átomos do ligante e os grupos do complexo plasmático de DHFR.

De acordo com a figura 17 as interações entre o ligante neosergeolida e a enzima DHFR ocorrem por meio de ligações não-covalentes fracas dos tipos: interações alquila-alquila, interações alquila- π e ligações mais intensas, como as ligações de hidrogênio. Observando a figura 18, no complexo-ligante-proteína da neosergeolida e o complexo DHFR é possível analisar e observar onde exatamente ocorrem as principais e relevantes interações moleculares: o anel δ -valerolactona interage com LEU45 (leucina) por interação alquil-alquil. Os anéis A, B e D não mostraram interações significativas. O anel C da neosergeolida interage com ILE121 (isoleucina) e com SER120 (serina) por uma interação alquil-alquila, outra interação no anel C ocorre com SER117 (serina) por uma interação mais intensa de ligação de hidrogênio. Podemos observar outras ligações de hidrogênio, uma entre o O9 e a sequência de aminoácido MET54 (metionina) e entre o O2 e o aminoácido LEV45.

Ao verificar a diferença nos valores de energia livre (ΔG°), lembrando que valores negativos indicam um resultado espontâneo, entre a isobruceína B (-8,3 kcal /mol) e a nersergeolida (-9,3 kcal /mol), a estrutura da neosergeolida tem um valor de energia menor que a isobruceína B, isso se deve a alguns fatores: de que a estrutura da neosergeolida possui interações mais fortes com aminoácidos, no caso uma maior quantidade de ligações de hidrogênio, visto que estas ligações são mais fortes que as alquila não covalente alquil-alquila, sulfanilamida-alquila, interações alquila- π ; outro fator é a presença do anel δ -valerolactona (o anel de 5 membros) que possui uma carbonila em sua estrutura, está por sua vez atraindo espécies carregadas positivamente através de ligação de hidrogênio (HOUEL et al., 2013). Por outro lado, a isobruceína B não possui este anel de 5 membros, assim a interação com a PRO122 torna-se muito mais fraca, por meio de uma interação alquil-alquil (força de Van der Waals). Portanto a neosergeolida possui interações mais intensas com a DHFR, sendo assim teoricamente a neosergeolida é um melhor inibidor da DHFR. Estes resultados sugerem que a neosergeolida pode ser considerada como um bom composto no desenvolvimento de novos inibidores de DHFR do que a isobruceína B.

5.0. Considerações finais

O presente trabalho teve como confirmação as atividades biológicas das moléculas isobruceína B e neosergeolida, com o destaque a atividade antimalárica através dos métodos teóricos e clássicos, confirmando os estudos experimentais já publicados. O presente trabalho confirmou que a formação de um dímero é plenamente possível em ambas as moléculas.

A presença de dímeros confirma os valores obtidos no estudo do infravermelho, devido a um melhor resultado nos valores das bandas teóricas sendo possível uma comparação mais próxima das bandas experimentais. Podemos aqui entender que de fato o resultado experimental é obtido dos dímeros e não dos monômeros, por isso quando é feito o cálculo do estudo teórico dimérico o resultado é próximo ao experimental.

Os cálculos de docking molecular mostraram que a isobruceína B e a neosergeolida conseguem inibir de forma efetiva a enzima *dihidrofolato redutase* do *Plasmodium vivax*. As moléculas apresentaram um resultado superior a pirimetamina (o fármaco padrão).

Medicamentos diferentes do padrão estão sendo utilizados no tratamento da malária como por exemplo: uma vacina RTS e um fármaco chamado tafenoquina. Estão sendo desenvolvidos pelo fato de a malária, no caso o *p. falciparum* e o *p. vivax*, estarem se tornando cada vez mais resistente a cloroquina e a pirimetamina. De fato, a elaboração de novos fármacos para combater a malária se faz necessário.

Dentre os quassinóides estudados nesse trabalho, os resultados sugerem que a estrutura da neosergeolida pode ser considerada um bom composto líder no desenvolvimento de novos inibidores DHFR. Os resultados deste estudo podem servir como ponto de partida para futuros estudos computacionais e experimentais do desenvolvimento de um novo medicamento contra a malária utilizando a neosergeolida.

Diante de várias pesquisas ao longo desse dois anos, posso relacionar dois fatores que dificultam o uso da neosergeolida ou isobruceína B como fármacos: o primeiro motivo é a citotoxicidade das moléculas, esses quassinóides funcionam como uma esponja que acabam limpando e eliminando todas as moléculas que entram em contato com estes; o segundo motivo é a *P.sprucei hook* que está em extinção atualmente, e é uma árvore difícil de fazer plantações sustentáveis, ou seja, é uma matéria prima difícil de se obter.

Esse trabalho também gerou a submissão de um resumo para o 43ª Reunião Anual da SBQ, até o presente momento estamos aguardando aprovação. Da mesma forma o trabalho foi submetido na forma de artigo para a revista Chemical Physics, ainda aguardando a publicação.

Além de tudo já mencionado, outro trabalho foi feito em conjunto com outros integrantes do grupo de pesquisa do laboratório de química teórica computacional e com o Professor Dr. Emerson Lima da faculdade de ciências farmacêuticas da UFAM, que gerou uma publicação em uma prestigiada revista teórica.

Em relação a trabalhos futuros pretendo escrever mais um artigo relacionado aos quassinóides, a respeito de algumas dificuldades encontradas ao longo do caminho para este trabalho que vale ser discutida com mais tempo. No caso a dificuldade encontrada está relacionada a elucidação dos quassinóides, existe uma longa discussão a respeito da neosergeolida e da sergeolida serem a mesma molécula. Estudos indicam que a molécula sergeolida não existe, e o que de fato foi observado nesse trabalho. O projeto inicial foi o estudo teórico da isobruceína B e da sergeolida, porem os resultados obtidos mostraram uma diferença grande na comparação dos resultados teórico com o experimental. Diante desse cenário, foi sugerido substituir a sergeolida pela neosergeolida, e dessa forma os resultados teóricos corresponderam os experimentais. Acredito que um futuro trabalho, utilizando a química teórica a fim de comprovar a inexistência da sergeolida seria necessário e importante para findar essa questão que perdura a longos anos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, H. A. **Estudo de Sistemas Químicos Aplicando-se a Teoria do Funcional de Densidade**. [s.l: s.n.].

ALMEIDA, M. M. B. et al. Ocorrência e atividade biológica de quassinóides da última década. **Química Nova**, v. 30, n. 4, p. 935–951, 2007.

ALVES, I. A. B. S. et al. Simaroubaceae family: Botany, chemical composition and biological activities. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 24, n. 4, p. 481–501, 2014a.

ALVES, I. A. B. S. et al. Simaroubaceae family: Botany, chemical composition and biological activities. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 24, n. 4, p. 481–501, 2014b.

AMORIM, R. C. N.; POHLIT, A. . *Picrolemma sprucei* Hook. f.: Uso Tradicional, Princípios Ativos e seus Derivados Semi-sintéticos, Exploração Comercial e Econômica. **Revista Fitos**, v. 2, n. 1, p. 7, 2006.

AMOS, T.; SNYDER, L. C. Unrestricted Hartree — Fock Calculations . v. 1773, n. July, p. 10, 2004.

BARBOSA, L. F.; BRAZ-FILHO, R.; VIEIRA, I. J. C. Chemical constituents of plants from the genus *simaba* (Simaroubaceae). **Chemistry and Biodiversity**, v. 8, n. 12, p. 2163–2178, 2011.

BERNARDO, L. M. **Cálculos com funções de onda moleculares correlacionadas . Cálculos HF , MP2 e DFT em hidretos diatômicos da segunda linha . Dedicatória**. [s.l: s.n.].

BERRY, P. E.; DA S. RIBEIRO, J. S. Flora da Reserva Ducke. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 87, n. 3, p. 433, 2000.

BILSLAND, E. et al. Plasmodium dihydrofolate reductase is a second enzyme target for the antimalarial action of triclosan. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1–8, 2018.

BRANCHES, A. D. S. et al. Theoretical and experimental study by DFT, molecular docking calculations and cytotoxicity assay of 7,7-dimethylaporphine alkaloids type

isolated from *Guatteria friesiana* (Annonaceae). **Journal of Molecular Structure**, v. 1177, n. October, p. 347–362, 2019.

BUCHANAN, B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. **Biochemistry and Molecular Biology of Plants**. [s.l.: s.n.]. v. 21

CARLSON, B. C.; KELLER, J. M. Orthogonalization procedures and the localization of wannier functions. **Physical Review**, v. 105, n. 1, p. 102–103, 1957.

CARPENTER, J. E.; WEINHOLD, F. Analysis of the geometry of the hydroxymethyl radical by the “different hybrids for different spins” natural bond orbital procedure. **Journal of Molecular Structure: THEOCHEM**, v. 169, n. C, p. 41–62, 1988.

CERA, T.; PANCOTE, G. Planejamento de fármacos. **Revista científica Unilag**, v. 11, n. 6, p. 137–148, 2012.

COSTA, R. A. et al. Spectroscopic investigation, vibrational assignments, HOMO-LUMO, NBO, MEP analysis and molecular docking studies of oxoaporphine alkaloid liriodenine. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 174, p. 94–104, 2017.

COSTA, R. A. et al. Theoretical Investigation of the Structural, Spectroscopic, Electronic, and Pharmacological Properties of 4-Nerolidylcathecol, an Important Bioactive Molecule. **Journal of Chemistry**, v. 2019, p. 18–22, 2019.

CURCINO VIEIRA, I. J.; BRAZ-FELHO, R. **Quassinoids: Structural diversity, biological activity and synthetic studies**. [s.l.] Elsevier Masson SAS, 2006. v. 33

DEL FIOL, F. DE S. et al. Perfil de prescrições e uso de antibióticos em infecções comunitárias. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 43, n. 1, p. 68–72, 2010.

DUARTE, H. A. Índices de reatividade química a partir da teoria do funcional de densidade: Formalismo e perspectivas. **Química Nova**, v. 24, n. 4, p. 501–508, 2001.

EDWARDS, W. D.; ZERNER, M. C. A generalized restricted open-shell Fock operator. **Theoretica Chimica Acta**, v. 72, n. 5–6, p. 347–361, 1987.

FANDEUR, T.; MORETTI, C.; POLONSKY, J. In vitro and in vivo assessment of the

- antimalarial activity of sergeolide. **Planta Medica**, v. NO. 1, p. 20–23, 1985.
- FERNANDO, E. S.; QUINN, C. Pericarp anatomy and systematics of the Simaroubaceae sensulato. **Australian Journal of Botany**, v. 40, n. 1, p. 263–289, 1992.
- FIDOCK, D. A.; NOMURA, T.; WELLEMS, T. E. Cycloguanil and its parent compound proguanil demonstrate distinct activities against Plasmodium falciparum malaria parasites transformed with human dihydrofolate reductase. **Molecular Pharmacology**, v. 54, n. 6, p. 1140–1147, 1998.
- FISCHER, C. F. **General hartree-fock program**. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0010465587900531>>.
- FOCK, V. V et al. Bemerkung zum Virialsatz. p. 1928–1931, 1930.
- FORMENTI, L. Casos de malária voltam a crescer no Brasil. **Estadão**, 2018.
- FRAUSIN, G. et al. An ethnobotanical study of anti-malarial plants among indigenous people on the upper Negro River in the Brazilian Amazon. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 174, p. 238–252, 2015.
- HARTREE, D. R. The wave mechanics of an atom with a non-Coulomb central field. Part I. Theory and methods. **Mathematical Proceedings of the Cambridge Philosophical Society**, v. 24, n. 1, p. 89–110, 1928.
- HEISEY, R. M. Identification of an allelopathic compound from Ailanthus altissima (Simaroubaceae) and characterization of its herbicidal activity . **American Journal of Botany**, v. 83, n. 2, p. 192–200, 1996.
- HOHENBERG, P.; KOHN, W. (CUL-ID:1483532) Inhomogeneous Electron Gas. **Phys. Rev.**, v. 136, n. 3B, p. B864–B871, 1964.
- HOUEL, E. et al. Quassinoids: Anticancer and Antimalarial Activities. **Natural Products: Phytochemistry, Botany and Metabolism of Alkaloids, Phenolics and Terpenes**, n. January, p. 3775–3802, 2013.
- HUEY, R.; MORRIS, G. M.; FORLI, S. <2012_ADTtut.pdf>. 2012b.
- JONES, R. A.; PANDA, S. S.; HALL, C. D. Quinine conjugates and quinine analogues as potential antimalarial agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 97, n.

1, p. 335–355, 2015.

KIRCHMAIR, J. et al. Evaluation of the performance of 3D virtual screening protocols: RMSD comparisons, enrichment assessments, and decoy selection - What can we learn from earlier mistakes? **Journal of Computer-Aided Molecular Design**, v. 22, n. 3–4, p. 213–228, 2008.

KOHN, W. SHAM, L. J. Self-Consistent Equations Including Exchange and Correlation Effects. **Physical Review**, v. 140, n. 4A, p. A1133–A1137, 1965.

KOHN, W.; BECKE, A. D.; PARR, R. G. Density functional theory of electronic structure. **Journal of Physical Chemistry**, v. 100, n. 31, p. 12974–12980, 1996.

KONGSAEREE, P. et al. Crystal structure of dihydrofolate reductase from *Plasmodium vivax*: Pyrimethamine displacement linked with mutation-induced resistance. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 102, n. 37, p. 13046–13051, 2005.

KRETTLI, A. U. et al. The Search for New Antimalarial Drugs from Plants Used to Treat Fever and Malaria or Plants Randomly Selected: A Review. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 96, n. 8, p. 1033–1042, 2001.

KUO, P. C. et al. Cytotoxic and antimalarial constituents from the roots of *Eurycoma longifolia*. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 12, n. 3, p. 537–544, 2004.

LAPORTE, J.-R.; TOGNONI, G.; ROZENFELD, S. **Epidemiologia do Medicamento - Princípios Gerais**. [s.l: s.n.].

LATIF, Z. et al. An insecticidal quassinoid from the new Australian species *Quassia* sp. aff. *bidwillii*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 28, n. 2, p. 183–184, 2000.

LOWDIN, P. Quantum Theory of Many-Particle Systems. III. Extension of the Hartree-Fock Scheme to Include Degenerate Systems and Correlation Effects. **Physical Review**, v. 97, n. 6, p. 1509–1515, 1954.

MASSIMI, M. **Pauli's Exclusion Principle The Origin and Validation of a Scientific Principle**. [s.l: s.n.].

MENG, X.-Y. et al. Molecular Docking: A powerful approach for structure-based drug

discovery. **Bone**, v. 23, n. 1, p. 1–7, 2008.

MENG, X.-Y. et al. Molecular Docking: A Powerful Approach for Structure-Based Drug Discovery. **Current Computer Aided-Drug Design**, 2011.

MERRICK, J. P.; MORAN, D.; RADOM, L. An evaluation of harmonic vibrational frequency scale factors. **Journal of Physical Chemistry A**, v. 111, n. 45, p. 11683–11700, 2007.

MUKESH, B.; RAKESH, K. Review Article MOLECULAR DOCKING : A REVIEW Bachwani Mukesh *, Kumar Rakesh. **International Journal of Research in Ayurveda & Pharmacy**, v. 2, n. 6, p. 1746–1751, 2011.

NAMBA, A. M.; SILVA, V. B.; SILVA, C. H. T. P. Dinâmica molecular : teoria e aplicações em planejamento de fármacos. v. 33, p. 13–23, 2008.

OKANO, M.; FUKAMIYA, N.; LEE, K. H. Bioactive quassinoids. **Studies in Natural Products Chemistry**, v. 23, n. C, p. 285–333, 2000.

PARR, R. **Functional Theory of Atoms and Molecules**. New York: [s.n.].

PHILLIPS, M. A. et al. Has Molecular Docking Ever Brought us a Medicine? In: **Molecular Docking**. [s.l.: s.n.].

PIRANI, J. R.; DEVECCHI, M. F. Flora das cangas da Serra dos Carajás, Pará, Brasil: Picramniaceae. **Rodriguesia**, v. 67, n. 5, p. 1447–1449, 2016.

PISANA, S. et al. Breakdown of the adiabatic Born-Oppenheimer approximation in graphene. **Nature Materials**, v. 6, n. 3, p. 198–201, 2007.

POHLIT, A. M. et al. Amazonian plant natural products: Perspectives for discovery of new antimalarial drug leads. **Molecules**, v. 18, n. 8, p. 9219–9240, 2013.

SHIVA PRASAD, K. et al. Novel route for the synthesis of azepine derivative using tin-based catalyst: Spectroscopic characterization and theoretical investigations. **Journal of Molecular Structure**, v. 1178, p. 491–499, 2019.

SIEVÄNEN, E. et al. Structural studies of homoisoflavonoids: NMR spectroscopy, X-ray diffraction, and theoretical calculations. **Journal of Molecular Structure**, v. 979, n. 1–3, p. 172–179, 2010.

- SILVA, E. C. C. et al. Biological activity of neosergeolide and isobrucein B (and two semi-synthetic derivatives) isolated from the Amazonian medicinal plant *Picrolemma sprucei* (Simaroubaceae). **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 104, n. 1, p. 48–55, 2009.
- SLATER, J. C. Note on hartree's method. **Physical Review**, v. 35, n. 2, p. 210–211, 1930.
- SLATER, J. C. A simplification of the Hartree-Fock method. **Physical Review**, v. 81, n. 3, p. 385–390, 1951.
- SNOW, R. W. et al. The global distribution of clinical episodes of *Plasmodium falciparum* malaria. **Nature**, v. 434, n. 7030, p. 214–217, 2005.
- SUH, K. N.; KAIN, K. C.; KEYSTONE, J. S. Review Synthèse. **Cmaj**, v. 170, n. 11, p. 1693–1702, 2004.
- SZABO, A.; OSTLUND, N. S. **Modern quantum chemistry: introduction to advanced electronic structure theory**. [s.l: s.n.].
- TROTT, O.; OLSON, A. Autodock vina: improving the speed and accuracy of docking. **Journal of Computational Chemistry**, v. 31, n. 2, p. 455–461, 2010a.
- TROTT, O.; OLSON, A. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading. **Journal of Computational Chemistry**, v. 31, n. 2, p. 455–461, 2010b.
- VIEGAS, C.; DA SILVA BOLZANI, V.; BARREIRO, E. J. OS produtos naturais e a química medicinal moderna. **Química Nova**, v. 29, n. 2, p. 326–337, 2006.
- YANG, W.; AYERS, P. W. **Density-functional theory. In Computational Medicinal Chemistry for Drug Discovery**. [s.l: s.n.]. v. 1
- ZUKERMAN-SCHPECTOR, J. et al. A new quassinoid isolated from *Picrolemma pseudocoffea*. **Acta Crystallographica Section C Crystal Structure Communications**, v. 50, n. 5, p. 794–797, 1994.