

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

RAFAEL APARECIDO CARVALHO SOUZA

**ESTUDOS DAS SUPERFÍCIES DE HIRSHFELD, *DOCKING* MOLECULAR E
ANÁLISE DE PARÂMETROS FARMACOCINÉTICOS DE ADME DE
COMPLEXOS DE NÍQUEL(II) COM TIOSSEMICARBAZONAS**

UBERLÂNDIA

2022

RAFAEL APARECIDO CARVALHO SOUZA

**ESTUDOS DAS SUPERFÍCIES DE HIRSHFELD, *DOCKING* MOLECULAR E
ANÁLISE DE PARÂMETROS FARMACOCINÉTICOS DE ADME DE
COMPLEXOS DE NÍQUEL(II) COM TIOSSEMICARBAZONAS**

Trabalho de conclusão de curso de Licenciatura em
Química do Instituto de Química da Universidade
Federal de Uberlândia, como requisito para a
obtenção do título de Licenciado em Química.

Área de Concentração: Química Inorgânica

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Carolina Gonçalves Oliveira

UBERLÂNDIA

2022

Dedico este trabalho à minha família pelo incentivo e apoio em todos os momentos da vida.

AGRADECIMENTOS

A minha família pela ajuda e compreensão durante esta etapa da minha vida.

A Prof^a. Dr^a. Carolina Gonçalves Oliveira pela orientação, oportunidade, confiança, parceria e, principalmente disposição na excussão deste trabalho de conclusão de curso.

Ao Prof. Dr. Eduardo de Franca Faria por ter tido a paciência de ensinar a realizar e analisar os dados de *docking* molecular.

Ao apoio financeiro da CAPES, FAPEMIG e CNPq pelas bolsas de estudos e a FAPEMIG pelo apoio financeiro.

Ao GQbio, ao Instituto de Química da UFU e a UFU pelo espaço cedido para a realização deste projeto.

Enfim, a todas as pessoas que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

“Daria tudo que sei pela metade do que ignoro.”

(René Descartes)

RESUMO

Tiossemicarbazonas (TSCs) são compostos que possuem diversas aplicações biológicas e farmacológicas. Estudos biológicos anteriores envolvendo a atividade antibacteriana de complexos de Co(III), Cu(II) e Mn(II) derivados de TSCs revelaram complexos com potencial biológico promissor. Assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar a atividade antibacteriana teórica de complexos de Ni(II) contendo TSCs frente a cinco culturas bacterianas (*S. mutans*, *S. mitis*, *S. sanguinis*, *L. paracasei* e *E. faecalis*) por meio do *docking* molecular e analisar *in silico* os parâmetros farmacocinéticos de ADME. Para estes experimentos dois tipos diferentes de complexos de Ni(II) com ligantes tridentados do tipo 2-acetilpiridina-*N*(4)-*R*-tiossemicarbazona (Hatec-*R*) foram usados. O grupo *R* do ligante Hatec-*R* foi substituído por etil (Et, **1**) e fenil (Ph, **2**), para formar complexos do tipo [Ni(atc-Et)₂, **3**] e [Ni(atc-Ph)₂, **4**]. A análise da superfície de Hirshfeld do complexo **3** revelou que a estrutura supramolecular é estabilizada por interações do tipo H···H, C···H/H···C, N···H/H···N e S···H/H···S. Os estudos de *docking* molecular dos ligantes livres **1** e **2** e complexos metálicos **3** e **4** foram realizados com as estruturas cristalinas das enzimas das bactérias mencionadas acima e os resultados mostraram valores de ΔG altamente exergônico que revelam boa orientação e afinidade de ligação. O complexo **4** apresentou os melhores resultados entre todos os compostos testados. Os valores de ΔG para o complexo **4** foram de $-10,09 \text{ kcal mol}^{-1}$ para *L. paracasei*, seguida por $-8,95 \text{ kcal mol}^{-1}$ para *S. mutans* enquanto o melhor valor de ΔG do complexo **3** foi de $-7,24 \text{ kcal mol}^{-1}$ para *L. paracasei*. Os resultados do estudo *in silico* de ADME para **1**, **2**, **3** e **4** mostraram que estes compostos estão de acordo com as regras de Lipinski, Ghose, Veber e Egan, além de apresentarem boa solubilidade e características apropriadas para serem utilizadas por via oral. Os compostos também foram avaliados quanto à absorção intestinal humana (HIA), penetração na barreira hematoencefálica (BBB), inibição das isoenzimas pertencentes ao sistema CYP450 sendo que nenhum dos compostos são capazes de atravessar a barreira hematoencefálica e inibir as isoenzimas CYP2D6 e CYP3A4 pertencentes ao sistema CYP450. Assim, esse estudo demonstra que os compostos apresentam um perfil farmacocinético promissor visando sua aplicação terapêutica através da atividade antibacteriana.

PALAVRAS-CHAVE: Níquel(II), tiossemicarbazonas, superfícies de Hirshfeld, *docking* molecular, ADME.

ABSTRACT

Thiosemicarbazones (TSCs) are compounds that have diverse biological and pharmacological applications. Previous biological studies involving the antibacterial activity of Co(III), Cu(II) and Mn(II) complexes derived from TSCs revealed complexes with promising biological potential. Thus, the present study aimed to evaluate the theoretical antibacterial activity of Ni(II) complexes containing TSCs against five bacterial cultures (*S. mutans*, *S. mitis*, *S. sanguinis*, *L. paracasei* and *E. faecalis*) through of molecular docking and to analyze *in silico* the pharmacokinetic parameters of ADME. For these experiments two different types of Ni(II) complexes with tridentate ligands of the type 2-acetylpyridine-*N*(4)-*R*-thiosemicarbazone (Hatc-*R*) were used. The *R* group of the Hatc-*R* ligand was replaced by ethyl (Et, **1**) and phenyl (Ph, **2**), to form [Ni(atc-Et)₂, **3**] and [Ni(atc-Ph)₂, **4**] complexes. The analysis of the Hirshfeld surface of the complex **3** revealed that the supramolecular structure is stabilized by interactions of the type H···H, C···H/H···C, N··· H/H···N and S···H/H···S. Molecular docking studies of the free ligands **1** and **2** and metal complexes **3** and **4** were performed with the crystalline structures of the enzymes of the bacteria mentioned above and the results showed highly exergonic ΔG values that reveal good orientation and binding affinity. The complex **4** showed the best results among all compounds tested. The ΔG values for the **4** complex were -10.09 kcal mol⁻¹ for *L. paracasei*, followed by -8.95 kcal mol⁻¹ for *S. mutans* while the best value of ΔG of the **3** complex was -7.24 kcal mol⁻¹ for *L. paracasei*. The results of the *in silico* study of ADME for **1**, **2**, **3** and **4** showed that these compounds are in accordance with the rules of Lipinski, Ghose, Veber and Egan, in addition to having good solubility and characteristics suitable for oral use. The compounds were also evaluated for human intestinal absorption (HIA), blood-brain barrier (BBB) penetration, inhibition of isoenzymes belonging to the CYP450 system and none of the compounds are able to cross the blood-brain barrier and inhibit CYP2D6 and CYP3A4 isoenzymes belonging to the CYP450 system. Thus, this study demonstrates that the compounds have a promising pharmacokinetic profile aiming their therapeutic application through antibacterial activity.

KEYWORDS: Nickel(II), thiosemicarbazones, Hirshfeld surfaces, molecular docking, ADME.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Complexos de Co(III) com ação antibactericida e antiviral.....	14
Figura 2 – Complexos de Mn(II) derivados de tiossemicarbazonas com potencial atividade anti-Myco bacterium tuberculosis.	15
Figura 3 – Complexos de Ni(II) com ação antituberculose e antimicrobiana.	16
Figura 4 – Diagrama de cores da superfície d_{norm} em relação a soma dos raios de van der Waals.	19
Figura 5 – Diagrama de cores da superfície shape index.	19
Figura 6 – Diagrama de cores da superfície curvedness.	20
Figura 7 – Diagrama esquemático de uma superfície normal, \mathbf{n} , e as duas direções principais \mathbf{u} e \mathbf{v}	20
Figura 8 – Diagrama de cores do gráfico de impressão digital 2D.	21
Figura 9 – Fluxograma de <i>docking</i> molecular.	22
Figura 10 – Esquema de um mapa de grid.	23
Figura 11 – Rota sintética para a preparação dos complexos de Ni(II).....	27
Figura 12 – Estrutura cristalina do complexo 3	30
Figura 13 – Superfícies d_{norm} do complexo 3	31
Figura 14 – Superfície shape index do complexo 3	31
Figura 15 – Superfície curvedness do complexo 3	32
Figura 16 – Superfície d_{norm} da contribuição relativa das interações intermoleculares (esquerda) e gráfico de impressão digital 2D (direita) das interações (a) $H\cdots H$, (b) $O\cdots H/H\cdots O$, (c) $C\cdots H/H\cdots C$, (d) $S\cdots H/H\cdots S$, (e) $N\cdots H/H\cdots N$ e (f) $C\cdots C$ do complexo 3	33
Figura 17 – Contribuições percentuais das interações intermoleculares do complexo	34
Figura 18 – Estruturas cristalinas 3D da enzima das bactérias <i>S. mutans</i> , <i>S. mitis</i> , <i>S. sanguinis</i> , <i>L. paracasei</i> e <i>E. faecalis</i> com um ligante genérico no sítio ativo após o <i>docking</i> molecular.	37
Figura 19 – Rede de interação entre os ligantes e a estrutura cristalina de <i>S. mutans</i>	38
Figura 20 – Rede de interação entre os ligantes a estrutura cristalina de <i>S. mitis</i>	39
Figura 21 – Rede de interação entre os ligantes e a estrutura cristalina de <i>S. sanguinis</i>	40
Figura 22 – Rede de interação entre os ligantes e a estrutura cristalina de <i>L. paracasei</i>	41
Figura 23 – Rede de interação entre os ligantes e a estrutura cristalina de <i>E. faecalis</i>	42
Figura 24 – Estudo in silico para demonstrar o potencial dos ligantes livres Hatc-R como novos compostos candidatos a fármacos usando a ferramenta SwissADME.	49

Figura 25 – Estudo in silico para demonstrar o potencial dos complexos $[\text{Ni}(\text{atc-R})_2]$ como novos compostos candidatos a fármacos usando a ferramenta SwissADME. 50

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Parâmetros experimentais usados no <i>docking</i> molecular para os ligantes livres 1 e 2 , complexos 3 e 4 e o padrão CHD.	29
Tabela 2 – Estimativas das energias de ligação (ΔG em kcal mol ⁻¹) entre os ligantes e as estruturas das bactérias.	35
Tabela 3 – Resultados da constante de inibição (K_i) calculada dos ligantes.	35
Tabela 4 – Localização das interações intermoleculares e distâncias das ligações de hidrogênio, π - π e π -S dos ligantes com os resíduos de aminoácidos da bactéria <i>S. mutans</i>	44
Tabela 5 – Localização das interações intermoleculares e distâncias das ligações de hidrogênio, π - π e π -S dos ligantes com os resíduos de aminoácidos da bactéria <i>S. mitis</i>	45
Tabela 6 – Localização das interações intermoleculares e distâncias das ligações de hidrogênio, π - π e π -S dos ligantes com os resíduos de aminoácidos da bactéria <i>S. sanguinis</i>	46
Tabela 7 – Localização das interações intermoleculares e distâncias das ligações de hidrogênio, π - π e π -S dos ligantes com os resíduos de aminoácidos da bactéria <i>L. paracasei</i>	47
Tabela 8 – Localização das interações intermoleculares e distâncias das ligações de hidrogênio, π - π e π -S dos ligantes com os resíduos de aminoácidos da bactéria <i>E. faecalis</i>	48
Tabela 9 – Parâmetros físico-químicos dos ligantes livres 1 e 2	51
Tabela 10 – Parâmetros físico-químicos dos complexos 3 e 4	52
Tabela 11 – Dados sobre as principais propriedades farmacocinéticas dos ligantes livres 1 e 2 , complexos 3 e 4 e controle CHD.	54

LISTA DE ABREVIATURAS

ADME	Absorção, distribuição, metabolismo e excreção
AS	Acessibilidade sintética
Asn	<i>Asparagine</i>
BBB	Penetração na barreira hematoencefálica
CCDC	<i>Cambridge Crystallographic Data Centre</i>
CHD	Clorexidina
CIF	<i>Crystallographic Information File</i>
CIM	Concentração inibitória mínima
CYP450	Citocromo P450
DNA	Desoxyribonucleic acid
<i>E. faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
HIA	Absorção intestinal humana
His	<i>Histidine</i>
ki	Constante de inibição
<i>L. paracasei</i>	<i>Lactobacillus paracasei</i>
PDB	<i>Protein Data Bank</i>
PEOE	<i>Partial Equalization of Orbital Electronegative</i>
Phe	<i>Phenylalanine</i>
RMSD	<i>Root Mean Square deviation</i>
RNA	<i>Ribonucleic acid</i>
<i>S. mitis</i>	<i>Streptococcus mitis</i>
<i>S. mutans</i>	<i>Streptococcus mutans</i>
<i>S. sanguinis</i>	<i>Streptococcus sanguinis</i>
SH	Superfície de Hirshfeld
SI	<i>Selectivity index</i>
TPSA	Área de superfície polar topológica
TSC	Tiossemicarbazona
Tyr	Tyrosinase

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA.....	13
2	REFERENCIAL TEÓRICO	17
2.1	SUPERFÍCIES DE HIRSHFELD (SH).....	17
2.1.1	Propriedades das superfícies de Hirshfeld.....	18
2.2	<i>DOCKING</i> MOLECULAR.....	21
2.3	ANÁLISE <i>IN SILICO</i> DE PARÂMETROS FARMACOCINÉTICOS DE ADME .	24
3	OBJETIVOS.....	26
3.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	26
4	PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	26
4.1	SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DO COMPLEXO.....	26
4.2	SUPERFÍCIES DE HIRSHFELD (HS).....	27
4.3	<i>DOCKING</i> MOLECULAR.....	27
4.4	ANÁLISE <i>IN SILICO</i> DE PARÂMETROS FARMACOCINÉTICOS DE ADME .	29
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	29
5.1	SUPERFÍCIES DE HIRSHFELD	29
5.2	<i>DOCKING</i> MOLECULAR.....	34
5.3	ANÁLISE <i>IN SILICO</i> DOS PARÂMETROS FARMACOCINÉTICOS DE ADME	49
	REFERÊNCIAS	55

1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

A cavidade oral humana é um dos habitats mais dinâmicos para inúmeras espécies bacterianas, como diversas espécies do gênero *Streptococcus*, *Lactobacillus* e *Enterococcus* (KOMIYAMA et al., 2016; DEO, DESHMUKH, 2019). A boca abriga a segunda comunidade microbiana mais diversa do corpo, abrigando mais de 700 espécies de bactérias que colonizam as superfícies duras dos dentes e os tecidos moles da mucosa oral. Algumas perturbações do microbioma oral como disfunção das glândulas salivares (ou seja, alterações no fluxo e/ou composição da saliva), má higiene oral, inflamação gengival, hábitos alimentares e o tabagismo podem ter consequências prejudiciais como a cárie, gengivite e periodontite (KILIAN et al., 2016).

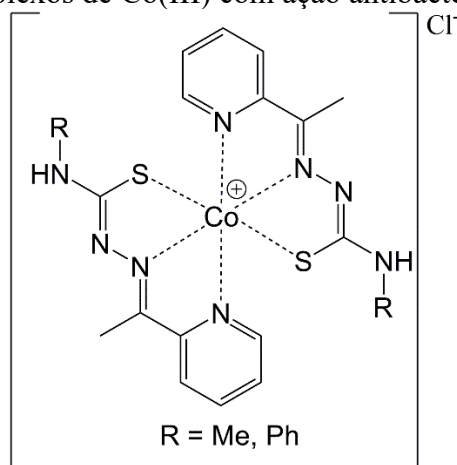
Atualmente, os antibióticos são a única opção de tratamento contra infecções bacterianas. No entanto, a tendência de resistência aos antibióticos tornou-se alarmante para a saúde pública e as bactérias orais não são exceção (VENTOLA, 2015; ZAMAN et al., 2017; SINGH et al., 2018). A baixa eficácia e/ou efeitos tóxicos dos medicamentos disponíveis podem levar a resistência antibiótica, o que eleva os custos de tratamentos, prolonga a permanência dos pacientes nos hospitais e pode aumentar os índices de mortalidade (ROCHA, 2015). A utilização de derivados de complexos de TSCs se mostram uma alternativa promissora devido às propriedades antibacterianas que possuem, inclusive em bactérias do trato oral. Além disso, a utilização de uma TSC complexada a um núcleo metálico pode em alguns casos até mesmo reduzir a toxicidade do composto, tornando-o mais seletivo (FERNANDES et al., 2020).

A classe de ligantes das TSCs e seus complexos metálicos tem despertado grande interesse nas últimas décadas devido às suas vantagens em vários campos, como na química medicinal (RICHARDSON et al., 2006; ATASEVER et al., 2010; TARALLO et al., 2010; SERDA et al., 2012). Tais complexos têm ganhado atenção especialmente na área de Química Bioinorgânica, no qual têm sido estudados como possíveis fármacos para tratar o câncer, bactérias e/ou vírus (LOPES et al., 2016; ALGHAMDI et al., 2019; FERNANDES et al., 2020; MOHARANA, DASH, SUBUDHI, 2020; SOUZA et al., 2021). A eficiência biológica dos complexos é significativamente alterada dependendo do metal e da composição da base de Schiff utilizados (VITORINO et al., 2015). Por exemplo, estudos anteriores com complexos octaédricos de Co(III) contendo TSCs derivadas de 2-acetilpiridina-*N*(4)-*R*-tiossemicarbazona apresentaram atividade antibacteriana notável, como valores de concentração inibitória mínima

(CIM) de 0,39 a 0,78 $\mu\text{g ml}^{-1}$ para *S. mutans*, *S. sanguinis* e *L. paracasei* (FERNANDES et al., 2020).

Recentemente, fizemos algumas observações interessantes sobre o efeito antibactericida e antiviral de complexos de Co(III) com TSCs (Figura 1). Em particular, descobrimos que complexos de Co(III) do tipo $[\text{Co}(\text{atc-R})_2]\text{Cl}$ (onde R = metil e fenil) apresentaram valores extremamente baixos de CIM para *S. sanguinis* (0,39 $\mu\text{g mL}^{-1}$), comparável ao controle, a clorexidina (CHD). Além disso, estudos de *docking* molecular foram realizados para os mesmos complexos de Co(III) e os resultados mostraram alta energia de ligação entre o composto e as bactérias avaliadas ($-3,45$ a $-9,55$ kcal mol^{-1}) (FERNANDES et al., 2020). Nesse contexto, os complexos metálicos com TSCs são de extremo interesse, devido às propriedades biológicas e a versatilidade química.

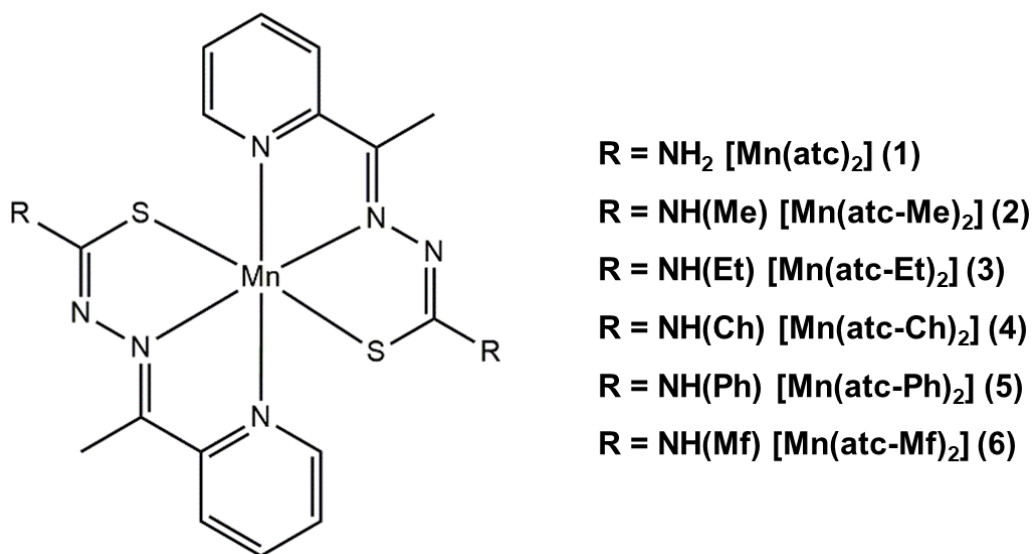
Figura 1 – Complexos de Co(III) com ação antibactericida e antiviral.



Fonte: Fernandes e colaboradores, 2020.

A literatura demonstra ainda que complexos de Mn(II) com 2-acetilpiridina-*N*(4)-(R)tiossemicarbazona do tipo $[\text{Mn}(\text{atc-R})_2]$ (Figura 2) apresentam propriedades antibacterianas interessantes para a *Mycobacterium tuberculosis*, bactéria causadora da Tuberculose (OLIVEIRA et al., 2014). Neste artigo, publicado em 2014, uma série de seis complexos foi investigada variando-se o grupo periférico R pelos grupos hidrogênio, metil, etil, ciclohexil, fenil e morfolinil. A CIM dos compostos para *M. tuberculosis*, bem como a citotoxicidade dos complexos *in vitro* em células VERO e J774A.1 (IC_{50}) foram avaliadas. Os resultados apresentaram-se promissores para os complexos com etil, ciclohexil e fenil com valores de CIM de 3,12; 3,3 e 0,78 $\mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente. Além do mais, os complexos não apresentaram toxicidade em células normais, conferindo aos mesmos alta seletividade (Figura 2).

Figura 2 – Complexos de Mn(II) derivados de tiossemicarbazonas com potencial atividade anti-*Mycobacterium tuberculosis*.



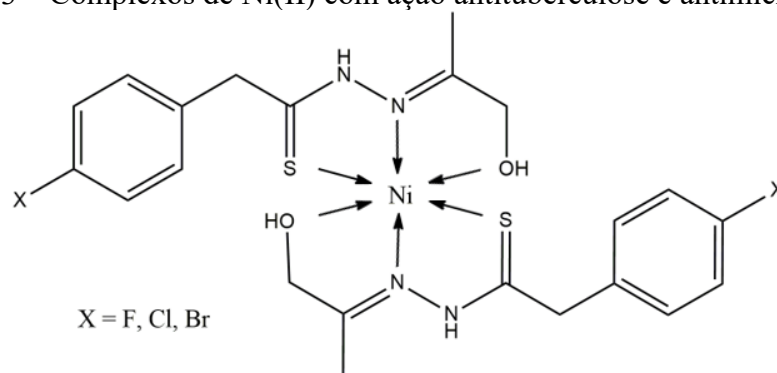
Fonte: Oliveira e colaboradores (2014).

É sabido que alguns metais de transição participam de várias reações no sistema biológico, fazendo parte também de metaloenzimas fundamentais para o nosso organismo. Dentre os metais de transição classificados como elementos traços no corpo humano, é possível citar ferro, cobre e zinco. Por outro lado, dentre os elementos micro traços estão manganês, cobalto e níquel. O níquel(II) é um componente essencial de várias enzimas, como por exemplo a urease, monóxido de carbono desidrogenase e hidrogenase. Complexos de níquel, comumente encontrados no estado de oxidação +2, apresentam configuração eletrônica d^8 , podendo adotar geometria quadrática ou octaédrica, dependendo do ligante presente (CHATTERJEE et al., 2012; WILLETT et al., 2012). Vários estudos revelaram que os complexos de níquel possuem atividade anticancerígena promissora. Por exemplo, quatro complexos de Ni(II) contendo tiossemicarbazona exibiram um grau significativo de citotoxicidade para a linhagem celular de adenocarcinoma de pulmão humano (A549). Esses complexos também induziram a apoptose em células A549 e inibiram a migração de células de câncer de pulmão (DEEPTHI, VENUGOPALAN, 2016).

West e colaboradores demonstraram há muito tempo que complexos de Ni(II) com 2-acetilpiridina-*N*(4)-etil-tiossemicarbazona apresentam propriedades antifúngicas interessantes (WEST, GALLOWAY, CASE, 1988). Neste contexto, outros grupos de pesquisa investigaram mais recentemente complexos de Ni(II) com TSCs halo-substituídas derivadas de hidroxil acetona (Figura 3) e complexos de níquel com TSCs do tipo [Ni(atc-Me)₂] e [Ni(atc-Ph)₂] para

uma variedade de aplicações biológicas, incluindo estudos antituberculosos e antimicrobianos (MAIA et al., 2011; NETALKAR, NETALKAR, REVANKAR, 2014). Esses complexos apresentaram valores significativos de CIM (0,78 e 0,95 $\mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente), incluindo alta seletividade (SI de 100 e 20, respectivamente). Portanto, o estudo computacional de TSCs substituídas por etil e fenil com centro metálico de Ni(II) fornece informações inéditas sobre as relações estrutura-atividade. Até o presente, poucos estudos explorando o potencial antibacteriano de complexos de Ni(II) com TSCs foram publicados (CHANDRA, VANDANA, 2014; AKBARI et al., 2018; POLO-CERÓN, 2019; SARKER et al., 2020).

Figura 3 – Complexos de Ni(II) com ação antituberculose e antimicrobiana.



Fonte: Netalkar, Netalkar, Revankar, 2014.

Em vista do grande potencial antibacteriano dos complexos de Ni(II) e a baixa disponibilidade de opções terapêuticas para o controle seletivo de bactérias bucais, neste trabalho, dois complexos de níquel foram estudados por métodos *in silico*. Os métodos teóricos têm desempenhado um papel importante no desenvolvimento da descoberta de medicamentos nas últimas três décadas (MENG et al., 2011; SLIWOSKI et al., 2013; GUAN et al., 2018). Durante os processos de descoberta e desenvolvimento de medicamentos, as estruturas são avaliadas de acordo com parâmetros muito diversos, a fim de orientar a seleção de quais produtos químicos sintetizar, testar e promover, com o objetivo final de identificar aqueles com a melhor chance de se tornar um medicamento eficaz para os pacientes. Assim, as moléculas devem apresentar alta atividade biológica juntamente com baixa toxicidade bem como acesso e concentração no alvo terapêutico no organismo (HAY et al., 2014). O uso do *docking* molecular para prever as interações entre os compostos e as bactérias testadas permitiu discutir os efeitos antibacterianos dos complexos. Além disso, para verificar as propriedades físico-químicas e farmacocinéticas bem como as interações do corpo humano com os compostos de interesse, foi realizado o estudo de absorção, distribuição, metabolismo e excreção (ADME).

Ambos os processos *in silico* citados acima são essenciais para determinar o uso e as propriedades das TSCs associadas aos complexos de níquel.

Assim, considerando o potencial dos complexos de Co(III) com TSCs e seguindo nosso interesse em desenvolver novas moléculas derivadas de complexos metálicos contendo TSCs com atividade biológica (FERNANDES et al., 2020), os objetivos deste estudo foram realizar a análise *in silico* dos parâmetros farmacocinéticos de ADME e investigação das interações entre 2 complexos de Ni(II) e seus ligantes livres contra cinco bactérias (*S. mutans*, *S. mitis*, *S. sanguinis*, *L. paracasei* e *E. faecalis*) por meio de análise de *docking* molecular. Além disso, foi realizado o estudo das superfícies de Hirshfeld a fim de obter informações a respeito da estrutura cristalina do composto **3**. Assim, espera-se que este estudo forneça novas informações estruturais e insights teóricos de compostos à base de Ni(II) com TSCs, incentivando a investigação destas substâncias como um tratamento alternativo para bactérias bucais.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 SUPERFÍCIES DE HIRSHFELD (SH)

A técnica de superfície de Hirshfeld surgiu de uma tentativa de definir o espaço ocupado por uma molécula em um cristal com o propósito do particionamento da densidade eletrônica do cristal em fragmentos moleculares. A técnica pode fornecer informações sobre as interações intermoleculares no cristal, uma vez que a superfície é determinada tanto pela molécula de origem quanto por seus vizinhos mais próximos. As SH receberam este nome em homenagem a F. L. Hirshfeld e são calculadas utilizando o programa CrystalExplorer. Através das análises das SH, é possível obter informações sobre o empacotamento do cristal e a força das interações intermoleculares dentro da rede cristalina (SPACKMAN, JAYATILAKA, 2009; BARBOUR, 2017).

A análise da SH é uma ferramenta útil para visualizar interações em estruturas cristalinas. Uma SH é uma superfície que separa qualquer volume do cristal do resto do espaço, onde a densidade eletrônica da molécula de interesse (a pró-molécula) é igual à contribuição de seus vizinhos (pro-cristal). Dessa forma, o cristal pode ser particionado em regiões, o que permite mapear uma ampla gama de funções nessas superfícies e, assim, visualizar várias propriedades que variam ao longo da molécula de interesse (BARBOUR, 2017). Por exemplo, a propriedade d_{norm} fornece uma descrição visual da força dos contatos em toda a molécula. A

superfície *shape index* fornece informações a respeito do encaixe das moléculas vizinhas na molécula de interesse. A superfície *curvedness* fornece informações a respeito das áreas planas da molécula em estudo. Finalmente, o gráfico de impressão digital 2D (*2D-Fingerprint plot*) descreve a ocorrência de todos os contatos ao redor da molécula em termos do percentual de importância da interação, tais como H···N, H···S, C···C, entre outras.

2.1.1 Propriedades das superfícies de Hirshfeld

A superfície d_{norm} é uma superfície gerada pelas distâncias de contato normalizada e é calculado pela Equação 1.

$$d_{norm} = d_{|e|} + d_{|i|} \quad \text{Equação 1}$$

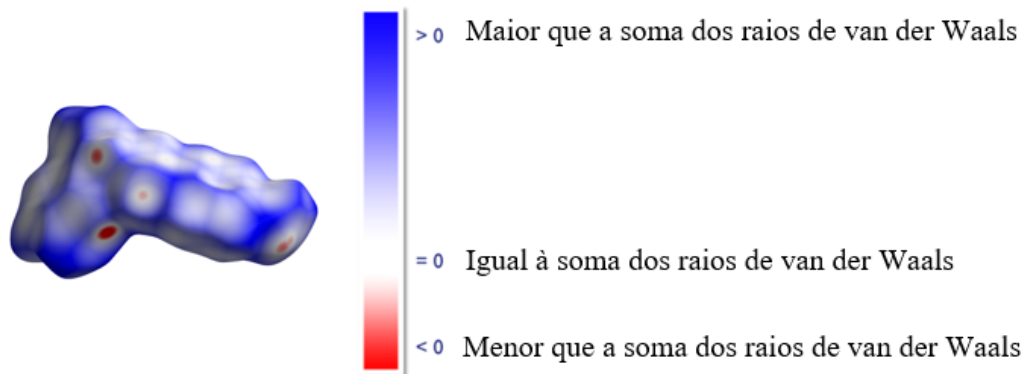
onde d_e (Equação 2) e d_i (Equação 3) são normalizados pelo raio de van der Waals do átomo envolvido e a soma dessas duas quantidades normalizadas é a propriedade d_{norm} . A propriedade d_e é a distância da SH ao núcleo mais próximo fora da superfície e d_i é a distância correspondente ao núcleo mais próximo dentro da superfície.

$$d_{|e|} = \frac{d_e - r_{vdw}}{r_{vdw}} \quad \text{Equação 2}$$

$$d_{|i|} = \frac{d_i - r_{vdw}}{r_{vdw}} \quad \text{Equação 3}$$

As cores geradas na superfície d_{norm} são dadas em função da soma dos raios de van der Waals. Se os átomos fazem contatos intermoleculares menores do que a soma de seus raios de van der Waals, esses contatos serão destacados em vermelho na superfície d_{norm} . Os contatos maiores são azuis e os contatos em torno da soma dos raios de van der Waals são brancos, conforme mostrado na Figura 4 (SPACKMAN, JAYATILAKA, 2009).

Figura 4 – Diagrama de cores da superfície d_{norm} em relação a soma dos raios de van der Waals.



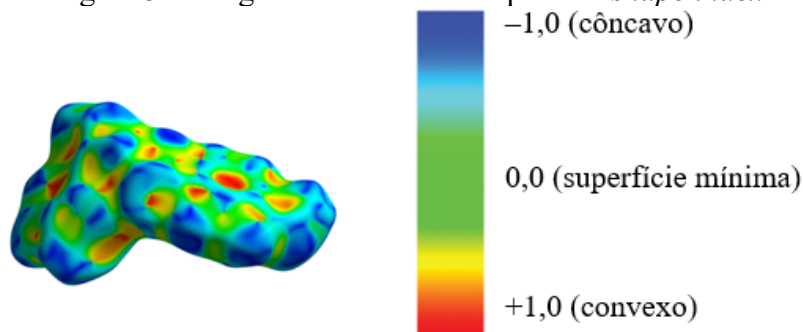
Fonte: o autor e adaptado de Spackman, 2021.

A superfície *shape index* (Figura 5) é uma medida qualitativa da forma e pode ser sensível a mudanças muito sutis na forma da superfície, particularmente em regiões onde a curvatura é muito baixa (convexo). Um atributo importante da *shape index* é que duas formas onde o índice de forma difere apenas por um sinal representam pares complementares. Isso significa que mapas de *shape index* podem ser usados para identificar cavidades complementares (MCKINNON, SPACKMAN, MITCHELL, 2004). O mapeamento da superfície *shape index* é descrito pela Equação 4,

$$S = \frac{2}{\pi} \arctang \left(\frac{\kappa_2 + \kappa_1}{\kappa_2 - \kappa_1} \right) \quad \text{Equação 4}$$

, com $\kappa_2 \geq \kappa_1$, onde as curvaturas principais κ_1 e κ_2 (curvatura gaussiana) representam a curvatura em relação as direções perpendiculares ao vetor normal à SH (MCKINNON, SPACKMAN, MITCHELL, 2004).

Figura 5 – Diagrama de cores da superfície *shape index*.



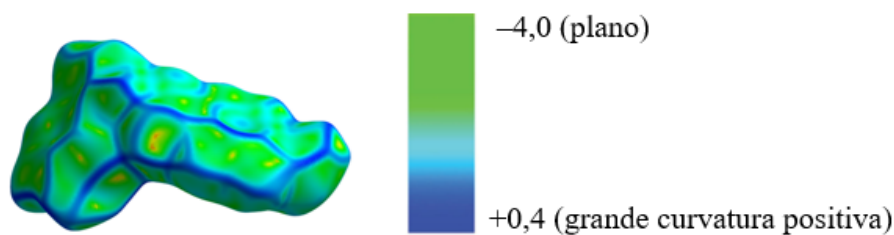
Fonte: o autor e adaptado de Spackman, Jayatilaka, 2009.

A superfície *curvedness* (Figura 6) é uma função da curvatura quadrática média da superfície, com áreas planas da superfície tendo uma *curvedness* baixa (plana) e áreas de curvatura acentuada tendo uma *curvedness* alta (curvatura positiva). O mapeamento da superfície *curvedness* é descrito pela Equação 5:

$$C = \sqrt{\frac{\kappa_1^2 + \kappa_2^2}{2}} \quad \text{Equação 5}$$

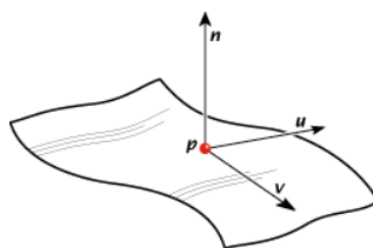
onde em qualquer ponto p na superfície, podemos determinar a normal externa \mathbf{n} , e existem duas direções principais \mathbf{u} e \mathbf{v} (Figura 7) ao longo das quais as curvaturas principais κ_1 e κ_2 (curvatura gaussiana) representam a curvatura em relação as direções perpendiculares ao vetor normal à SH (MCKINNON, SPACKMAN, MITCHELL, 2004).

Figura 6 – Diagrama de cores da superfície *curvedness*.



Fonte: o autor e adaptado de Spackman, Jayatilaka, 2009.

Figura 7 – Diagrama esquemático de uma superfície normal, \mathbf{n} , e as duas direções principais \mathbf{u} e \mathbf{v} .

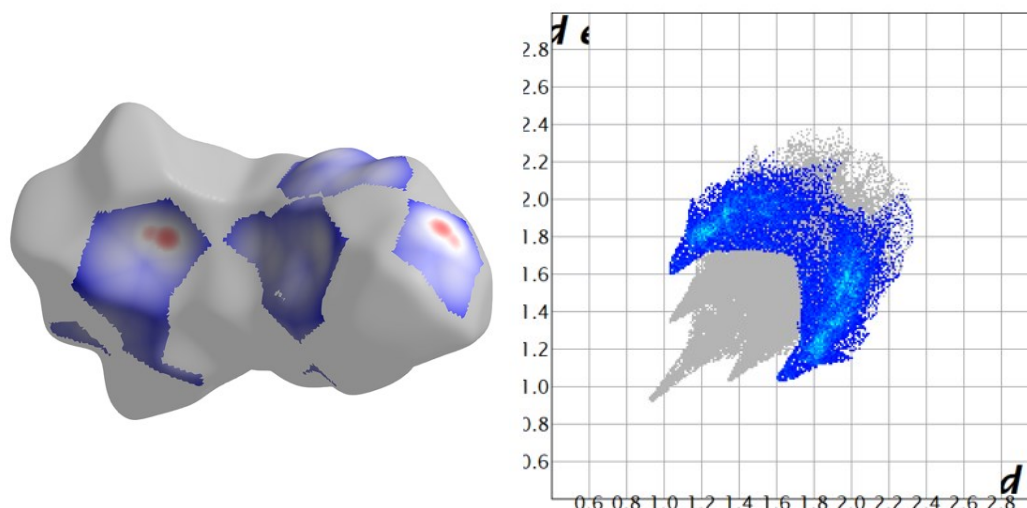


Fonte: Mckinnon, Spackman, Mitchell, 2004.

Os gráficos de impressão digital 2D da SH (Figura 8) representam as contribuições das interações intermoleculares no cristal. Esses gráficos de impressão digital 2D fornecem um resumo visual da frequência de cada combinação de d_e e d_i na superfície de uma molécula, de modo que não apenas indicam quais interações intermoleculares estão presentes, mas também a área relativa da SH. Os pontos no gráfico sem contribuição na superfície são deixados sem

cor (cinza), e os pontos com contribuição na superfície são coloridos de azul para uma pequena contribuição, passando de verde para vermelho para pontos com maior contribuição.

Figura 8 – Diagrama de cores do gráfico de impressão digital 2D.

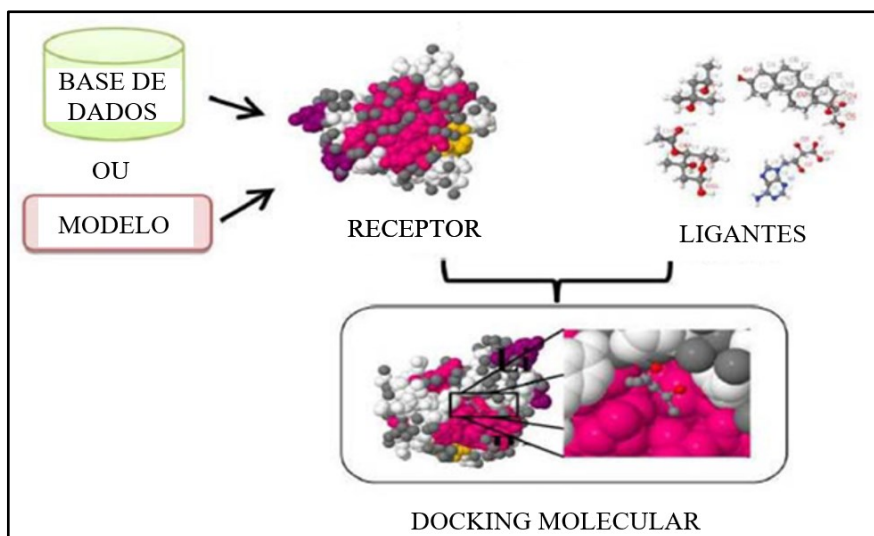


Fonte: o autor.

2.2 DOCKING MOLECULAR

O *docking* molecular é um método computacional que busca, por meio das energias livres de ligações, avaliar as orientações do ligante no sítio ativo do receptor para tornar o complexo estável. O receptor pode ser o DNA (*desoxyribonucleic acid*), o RNA (*ribonucleic acid*), proteínas, enzimas, dentre outros. A orientação preferida é determinada para prever a força da ligação ou afinidade de ligação entre o ligante e o receptor utilizando sistemas de pontuação, *scoring*. A Figura 9 ilustra um fluxograma do processo de *docking* molecular (CHAUDHARY, MISHRA, 2016). Após o *docking* molecular ter sido realizado, o software executa uma pesquisa sistemática no algoritmo, na qual a conformação do ligante é abordada de forma recorrente, até que a conformação de menor energia seja identificada. O *scoring* fornece um modo para classificar o posicionamento dos ligantes proporcionais aos outros. Idealmente, o *scoring* deve corresponder diretamente à afinidade de ligação do ligante com o receptor, ou seja, o melhor *scoring* é o melhor ligante. Assim, o resultado final terá um valor negativo de variação de energia livre de Gibbs em kcal mol⁻¹ (MAGALHÃES, 2006).

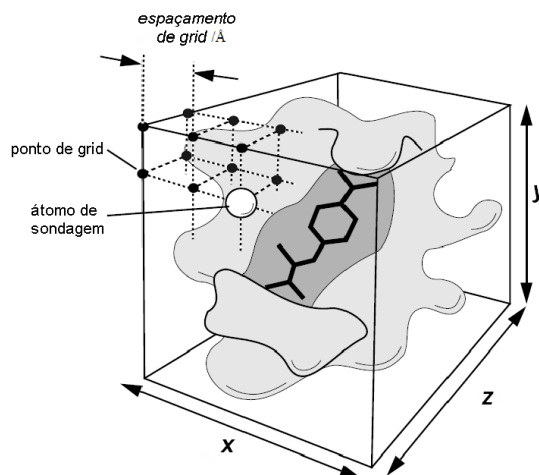
Figura 9 – Fluxograma de *docking* molecular.



Fonte: adaptado de Chaudhar, Mishra, 2016.

Para executar os cálculos de *docking* molecular, inicialmente é definido a parte rígida da molécula, ou seja, o sítio ativo do receptor, que permanece imóvel durante os cálculos, e a parte flexível, que se movimenta juntamente com o ligante para determinar a melhor conformação do sistema. As avaliações de energia são feitas rapidamente devido ao pré cálculo que é feito dos potenciais de afinidade de cada átomo do ligante com a região do receptor onde o *docking* será realizado. O ligante é colocado em uma grade tridimensional (Figura 10) que possui um átomo (*probe atom*) que investiga os pontos da grade onde o receptor está imerso e grava uma grade de afinidade para cada átomo do ligante, que é gerada de acordo com os átomos do receptor. Desse modo, são gerados mapas de grid (mapas de posições), sendo um para cada tipo de átomo presente no ligante. Os mapas são coletados pelo software AutoDock para a realização do *docking* (MORRIS et al., 2009; MENDES, 2014).

Figura 10 – Esquema de um mapa de grid.



Fonte: MENDES, 2014.

O *docking* molecular é frequentemente aplicado para antecipar a orientação de candidatos a fármacos em alvos específicos, a fim de estabelecer qual, ou quais, apresentam melhor acomodação no sítio ativo do alvo. Os resultados obtidos nos ensaios computacionais são dados em termos da energia de ligação necessária para que a provável molécula bioativa se ligue ao sítio ativo do alvo molecular selecionado (CHAUDHARY, MISHRA, 2016). Dessa forma, a molécula que apresentar menor quantidade de energia necessária para se ligar ao sítio ativo, será aquela que, teoricamente, apresentará melhor resultado de atividade biológica. Portanto, o *docking* molecular desempenha um papel crucial no processo de concepção e descoberta de fármacos. O principal objetivo do *docking* molecular é simular computacionalmente o processo de identificação e, realizar uma conformação otimizada para que a energia livre do sistema geral seja minimizada. Algumas das principais vantagens de se utilizar uma simulação computacional incluem (CHAUDHARY, MISHRA, 2016):

- Identificar informações químicas e biológicas sobre ligantes e/ou alvos para descobrir e otimizar novos fármacos;
- Selecionar os candidatos mais promissores;
- Predizer a constante de inibição (K_i);
- Identificar novos alvos de medicamentos já disponíveis.

O *docking* molecular permite que diversos compostos sejam testados a fim de obter um *screening* virtual, no qual aqueles que apresentam resultados promissores avançam para as etapas de síntese e avaliação de suas atividades biológicas. Da mesma forma, os compostos que

não apresentam resultados tão promissores não sejam sintetizados, evitando assim, gastos e trabalho desnecessário de síntese e avaliação biológica.

Um estudo realizado por Kawano e colaboradores (2006) mostrou que de cada 30 mil moléculas estudadas, 20 mil (66,7%) entram na fase de estudos pré-clínicos, 200 (0,67%) passam para a fase I de estudos clínicos, 40 (0,13%) entram na fase II, 12 (0,04%) seguem para a fase III, 09 (0,027%) são aprovadas pelos órgãos regulatórios, e apenas 1 (0,003%) satisfaz o mercado, trazendo retorno para a indústria que a desenvolveu. Esses dados demonstram o quanto é importante a realização de estudos teóricos prévios, como o *docking* molecular.

2.3 ANÁLISE *IN SILICO* DE PARÂMETROS FARMACOCINÉTICOS DE ADME

ADME é o acrônimo de quatro letras para absorção, distribuição, metabolismo e excreção, parâmetros que revelam a farmacocinética dos fármacos. Esses termos foram apresentados juntos pela primeira vez em inglês por Nelson em 1961, reformulando os termos reabsorção, distribuição, consumo e eliminação anteriormente usados por Teorell em 1937 (DOOGUE, POLASEK, 2013). Nos dias atuais, os estudos dos parâmetros farmacocinéticos de ADME são fundamentais na descoberta de novos fármacos (VRBANAC, SLAUTER, 2017).

A absorção é o processo pelo qual um fármaco entra na corrente sanguínea. Existem muitas vias de administração possíveis, mas as duas mais comuns são a intravenosa e a oral. Quando um fármaco é administrado por via intravenosa, a fase de absorção é saltada, pois o fármaco entra imediatamente na circulação. No entanto, grande parte dos medicamentos são administrados por via oral, pois possibilitam a autoadministração do paciente. Quando um medicamento é ingerido, ele viaja primeiro através do trato gastrointestinal, depois para o fígado, e de lá entra na circulação podendo ser distribuído para o local de ação. A taxa de absorção de um medicamento que entra na circulação (biodisponibilidade) pode ser afetada por muitos fatores, incluindo peso molecular, área de superfície polar topológica (TPSA), solubilidade, ionização e outras propriedades físico-químicas (DOOGUE, POLASEK, 2013; LOFTSSON, 2015).

A distribuição descreve a transferência de um medicamento de um local para outro no corpo. O processo de distribuição do fármaco é importante porque pode afetar a quantidade que acaba nos sítios ativos e, portanto, a eficácia e a toxicidade do medicamento. Um fármaco se moverá do local de absorção para os tecidos ao redor do corpo, como tecido cerebral, gordura e músculo. Muitos fatores podem influenciar a movimentação do fármaco, como fluxo

sanguíneo, lipofilicidade, peso molecular e a forma como o fármaco interage com os componentes do sangue, como proteínas plasmáticas (DOOGUE, POLASEK, 2013; LOFTSSON, 2015).

A avaliação do parâmetro metabolismo é essencial para avaliar a biodisponibilidade de fármacos administrados por via oral. O metabolismo pode ativar o fármaco e às vezes produzir metabólitos ativos. Além disso, o metabolismo pode fazer a conversão de compostos geralmente mais lipofílicos em metabólitos hidrofílicos que podem ser eliminados do corpo via excreção. A metabolização do fármaco envolve enzimas e vários estudos investigativos que podem ser necessários para identificar os principais metabólitos e vias metabólicas relevantes (DOOGUE, POLASEK, 2013; LOFTSSON, 2015). As enzimas do citocromo P450 (CYP450) são responsáveis pela biotransformação ou metabolismo de cerca de 70-80% de todos os fármacos de uso clínico. Geralmente, quando um fármaco é metabolizado pelas enzimas CYP450 no processo de eliminação (excreção), metabólitos inativos que não têm nenhuma atividade farmacológica, são gerados (ZANGER, SCHWAB, 2013). Entretanto, as consequências da inibição desta enzima incluem aumento da toxicidade do medicamento devido as interações medicamentosas, ou redução da efetividade do medicamento quando ele é um pró-fármaco e depende da atividade de enzimas do CYP450 para ser ativado antes de atingir o alvo no corpo humano (DOLIGALSKI, TONG LOGAN, SILVERMAN, 2012).

A excreção é a eliminação irreversível de uma substância do organismo. Na maioria dos casos, todo o material relacionado ao medicamento, incluindo o fármaco original e os metabólitos, são eventualmente eliminados do corpo. A excreção geralmente ocorre por função do rim (urina) ou do fígado (bile/fezes), mas também pode ocorrer através do suor, lágrimas ou respiração (DOOGUE, POLASEK, 2013; LOFTSSON, 2015).

Estudos realizados por Kola e Landis (2004) mostraram que na década de 1980, aproximadamente 40% das falhas clínicas de medicamentos podiam estar ligadas a farmacocinética dos parâmetros de ADME. Já no início do século XXI essa taxa de falha foi para 10% ou menos devido ao surgimento de programas abrangentes de descoberta/desenvolvimento pré-clínico de última geração abordando essas questões. Atualmente, mais de 80% dos novos fármacos em investigação falham durante o desenvolvimento do medicamento devido aos resultados de absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade serem insatisfatórios. O processo de descoberta de novos medicamentos continua a evoluir e a avaliação precoce dos parâmetros farmacocinéticos de ADME tornou-se uma parte rotineira e importante no processo de examinar compostos modelos

na descoberta de novas terapias (KOLA, LANDIS, 2004; VRBANAC, SLAUTER, 2017). Esses dados demonstram o quanto é importante a realização de estudos prévios ligados aos parâmetros farmacocinéticos de ADME que minimizem escolhas que podem não ter resultados promissores que elevam cada vez mais os gastos na busca de medicamentos.

3 OBJETIVOS

Realizar estudos de *docking* molecular, superfícies de Hirshfeld e análise dos parâmetros farmacocinéticos de absorção, distribuição, metabolismo e excreção (ADME) de 2 complexos homolépticos de níquel(II) contendo TSCs.

3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar estudos das superfícies d_{norm} , *shape index*, *curvedness* e porcentagem da contribuição das interações através dos gráficos de impressão digital 2D da estrutura cristalina do complexo **3**;
- Avaliar a energia de interação dos compostos **1**, **2**, **3** e **4** com as enzimas das bactérias *S. mutans*, *S. mitis*, *S. sanguinis*, *L. paracasei* e *E. faecalis*;
- Analisar as interações intermoleculares dos complexos receptor-ligante formado a partir do *docking* molecular;
- Realizar estudos das regras de Lipinski, Ghose, Veber e Egan;
- Analisar os parâmetros de lipofilicidade, biodisponibilidade, parâmetros de semelhança de fármacos e propriedades físico-químicas;
- Analisar os parâmetros de absorção, distribuição, metabolismo e excreção.

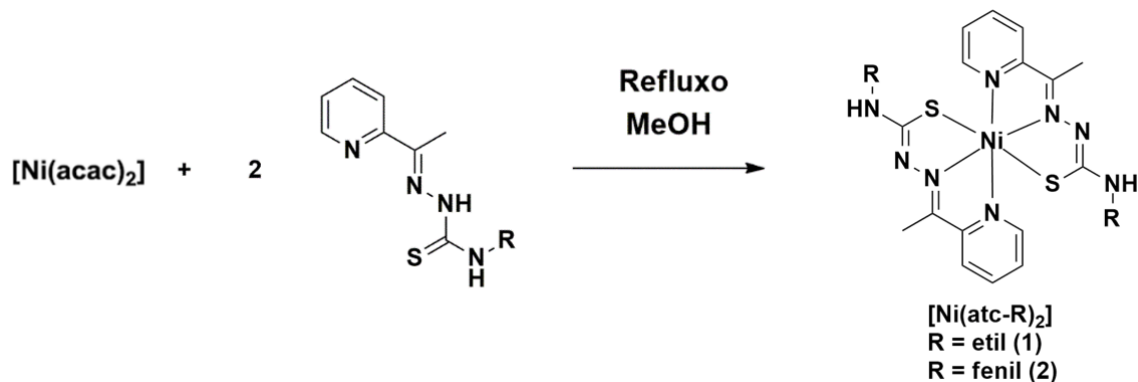
4 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

4.1 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DO COMPLEXO

Os complexos estudados neste trabalho, foram obtidos e caracterizados anteriormente como já descrito (MAIA et al., 2011; OLIVEIRA, 2013). Resumidamente, os complexos codificados como **3** e **4** (Figura 11) foram obtidos partindo-se de 0,25 mmol do $[\text{Ni}(\text{acac})_2]$ adicionado a uma solução contendo 0,50 mmol do ligante desejado **1** ou **2** previamente

dissolvido em 15 mL de metanol. A solução é agitada por 2 horas sob refluxo à 80 °C, resultando em um precipitado de cor marrom escura, que é filtrado e lavado com *n*-hexano. Cristais em forma de prisma foram obtidos por evaporação lenta da solução mãe de **3**.

Figura 11 – Rota sintética para a preparação dos complexos de Ni(II).



Fonte: o autor.

4.2 SUPERFÍCIES DE HIRSHFELD (HS)

As superfícies de Hirshfeld foram geradas com o programa CrystalExplorer, versão 17.5, (WOLFF et al., 2007) a partir do arquivo CIF (*Crystallographic Information File*) depositado no CCDC (*Cambridge Crystallographic Data Centre*) identificado pelo código 2031529, disponível em <https://www.ccdc.cam.ac.uk/>. As forças das interações foram calculadas pela distância de contato normalizada (d_{norm}) da superfície de Hirshfeld. Os gráficos de impressão digital 2D foram calculados a fim de analisar a contribuição relativa das interações intermoleculares do complexo **3**. As superfícies de d_{norm} , *shape index* e *curvedness* foram mapeados usando uma escala de cor fixa de -0,2547 a 1,4306 a.u., -1,0000 a 1,0000 a.u. e -4,0000 a 0,4000 a.u., respectivamente. Os gráficos de impressão digital 2D foram exibidos usando escalas de distância d_e e d_i nos eixos do gráfico (0,4 a 3,0 Å).

4.3 DOCKING MOLECULAR

Os estudos de *docking* molecular foram realizados com o objetivo de avaliar a energia de interação e as interações formadas entre os ligantes (ligantes livres **1** e **2**, complexos **3** e **4** e o padrão CHD) e as estruturas cristalinas das enzimas das bactérias *S. mutans* (PDB 5C2O), *S. mitis* (PDB 3LE0), *S. sanguinis* (PDB 4N82), *L. paracasei* (PDB 6CHK) e *E. faecalis* (PDB

4LRL). Os complexos **3** e **4** e o controle CHD (CCDC 2031529, CCDC 2031529 e CCDC 988972, respectivamente) foram obtidos do CCDC. Os ligantes livres **1** e **2** foram desenhados no GABEDIT (ALLOUCHE, 2011) e otimizados com o método semiempírico PM7 usando o programa MOPAC2016 (STEWART, 2016). As estruturas cristalinas das enzimas das bactérias foram obtidas do PDB (*Protein Data Bank*) disponível em <https://www.rcsb.org/>. As interações formadas entre os ligantes e as estruturas cristalinas das enzimas das bactérias foram geradas usando o programa Discovery Studio Visualizer (BIOVIA, 2017).

Os procedimentos de re-*docking* foram realizados usando a interface AutoDockTools 1.5.6, juntamente com autogrid4 e autodock4 (MORRIS et al., 2009). Para preparar os ligantes e as enzimas para os cálculos de *docking* molecular, foram adicionadas cargas parciais Gasteiger (SANNER, 1999) (que utiliza o princípio da equalização da eletronegatividade através do procedimento PEOE (*Partial Equalization of Orbital Electronegative*)) no programa AutoDockTools 1.5.6 e convertidas nas estruturas cristalinas necessárias para os cálculos no autodock4. Para realizar os estudos de *docking* molecular, os compostos/complexos e os resíduos de aminoácidos que interagem com os ligantes foram considerados como parte flexível enquanto o resto da enzima foi considerado como parte rígida.

O algoritmo genético lamarkiano usado no programa autodock4 foi:

- população (150 indivíduos);
- número máximo de avaliações (25.000.000);
- número máximo de gerações (27.000);
- um indivíduo sobrevivendo até a próxima geração;
- execuções de *docking* de algoritmos genéticos (150);

Os parâmetros experimentais (caixa de grade e os centros) utilizados no estudo de *docking* molecular estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 – Parâmetros experimentais usados no *docking* molecular para os ligantes livres **1** e **2**, complexos **3** e **4** e o padrão CHD.

Bactéria	Caixa de grade	Mapa da grade central (coordenadas xyz)
<i>S. mutans</i>	44 × 44 × 54	70,420; 58,590; 39,788
<i>S. mitis</i>	30 × 34 × 40	-2,030; -10,350; -14,478
<i>S. sanguinis</i>	54 × 64 × 56	-21,400; 24,385; 21,481
<i>L. paracasei</i>	52 × 42 × 46	6,144; 26,197; 17,860
<i>E. faecalis</i>	62 × 52 × 54	1,065; 2,539; 19,877

Nota: CHD é o controle clorexidina. Fonte: o autor.

4.4 ANÁLISE *IN SILICO* DE PARÂMETROS FARMACOCINÉTICOS DE ADME

Os parâmetros farmacocinéticos de ADME dos compostos estudados (ligantes livres **1** e **2**, complexos **3** e **4** e CHD) foram analisados usando o software online gratuito SwissADME, desenvolvido e mantido pelo *Molecular Modeling*, grupo do Instituto Suíço de Bioinformática (DAINA, MICHIELIN, ZOETE, 2017). Neste site, os modelos estruturais 2D dos compostos analisados foram desenhados na janela Marvin JS da ChemAxon do site SwissADME e transferidos para o formato SMILES (sistema de entrada de linha de entrada molecular simplificado) para prever propriedades adequadas. Os resultados foram analisados usando as regras de Lipinski, Ghose, Veber e Egan que ajudam a avaliar as características farmacocinéticas de candidatos a fármacos (LIPINSKI et al., 1997; GHOSE, VISWANADHAN, WENDOLOSKI, 1999; EGAN, MERZ, BALDWIN, 2000; VEBER et al., 2002). Além disso, os compostos estudados também foram avaliados para absorção intestinal humana (HIA), penetração na barreira hematoencefálica (BBB), inibição de isoenzimas pertencentes ao sistema CYP450 e acessibilidade sintética (AS).

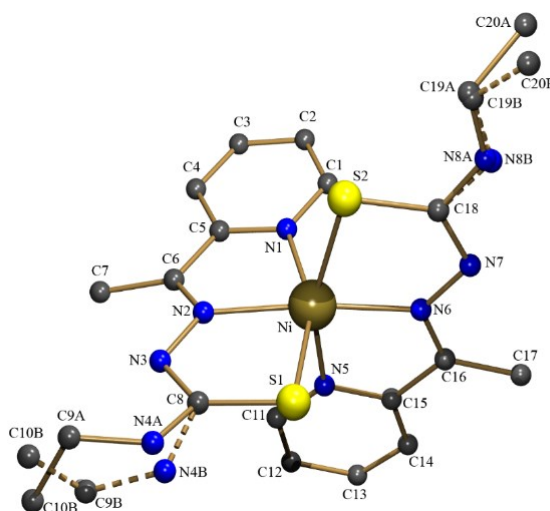
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 SUPERFÍCIES DE HIRSHFELD

Nesta seção serão apresentados e discutidos os resultados obtidos a partir da análise da superfície de Hirshfeld do complexo **3**, o qual a determinação estrutural, por difração de raios X foi discutida em Oliveira, 2013. Os dados de raios X mostraram que a TSC se coordena ao

centro metálico Ni(II) através dos átomos doadores *N,N,S* formando uma geometria octaédrica após a desprotonação do ligante livre **1** como mostrado na Figura 12.

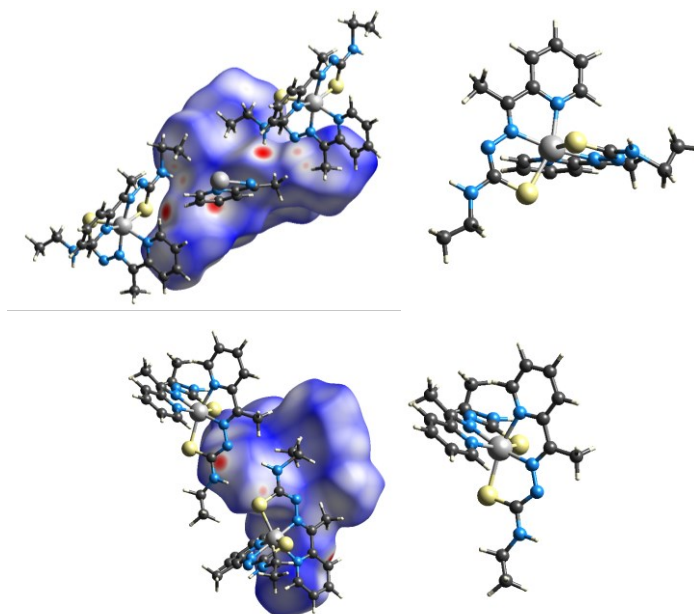
Figura 12 – Estrutura cristalina do complexo **3**.



Fonte: o autor.

As superfícies de Hirshfeld, geradas a partir do arquivo CIF com o programa CrystalExplorer 17.5 foram usadas para visualizar e quantificar as interações intermoleculares na rede cristalina do complexo **3** usando as superfícies de d_{norm} , *shape index* e *curvedness*. As superfícies d_{norm} , mostradas na Figura 13, ilustram as interações mais fortes (pontos vermelhos) que ocorrem no complexo, sendo estas: N–H···N, C–H···N e N–H···S. Como visto na Secção 2.1.1, onde os átomos fazem contatos intermoleculares menores do que a soma de seus raios de van der Waals, esses contatos serão destacados em vermelho e, conseqüentemente, quanto mais próximos são esses contatos, maiores e mais intensos serão os pontos vermelhos. Assim é possível observar que os pontos vermelhos maiores se referem as ligações de hidrogênio N–H···N e as interações N–H···S (Figura 13). Já as interações C–H···N aparecem como pontos bem menores. Isso significa que a distância entre os átomos das interações N–H···N, N–H···S e C–H···N são menores do que a soma de seus raios de van der Waals e todos os outros contatos presentes no complexo são maiores do que a soma de seus raios de van der Waals.

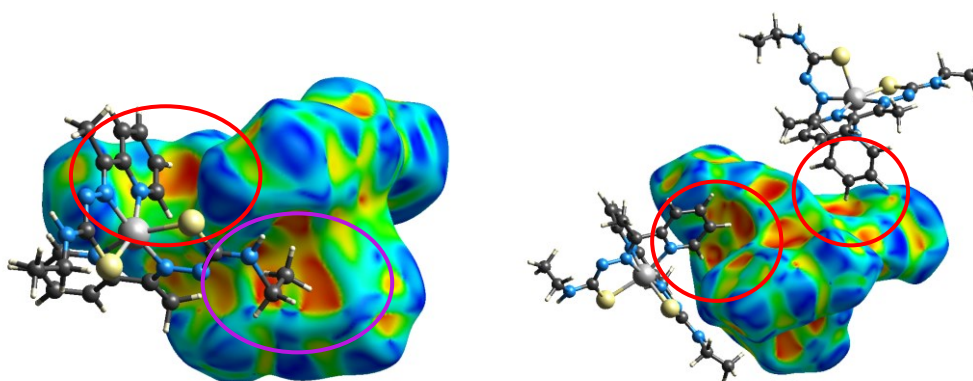
Figura 13 – Superfícies d_{norm} do complexo 3.



Fonte: o autor.

A superfície *shape index* permite identificar a complementaridade intermolecular entre moléculas da estrutura cristalina através de cores opostas (vermelho e amarelo se encaixam no azul e verde), permitindo assim entender o arranjo das moléculas no espaço. A partir da superfície *shape index* (Figura 14), pode-se observar que parte do anel piridina de uma molécula (circulado em vermelho) fica entre um anel de piridina e um grupo $-NCH_2CH_3$ de outra molécula e que o grupo $-NCH_2CH_3$ de uma molécula (circulado em roxo) fica entre dois anéis piridina de outra molécula.

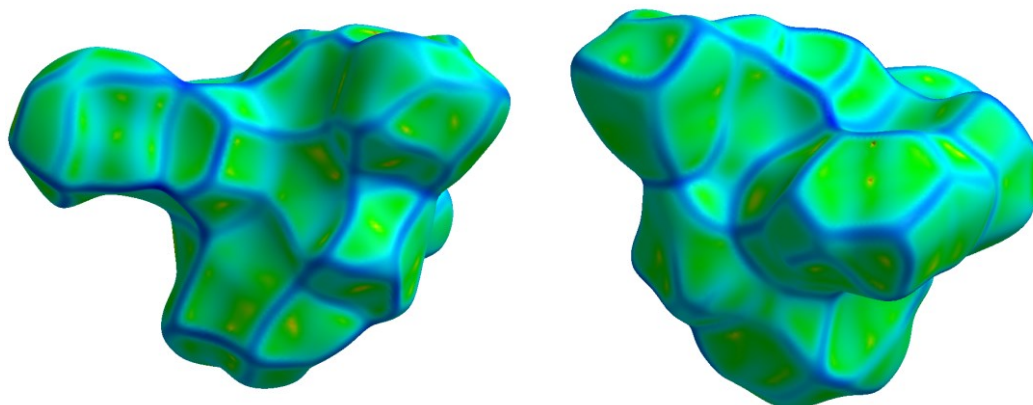
Figura 14 – Superfície *shape index* do complexo 3.



Fonte: o autor.

Na superfície *curvedness* (Figura 15) pode-se observar que a molécula não possui superfícies planares, o que não favorece a formação do empilhamento $\pi \cdots \pi$ na estrutura cristalina. Esse fato é comprovado pela ausência de contatos $C \cdots C$ na análise dos gráficos de impressão digital 2D, discutidos mais adiantes.

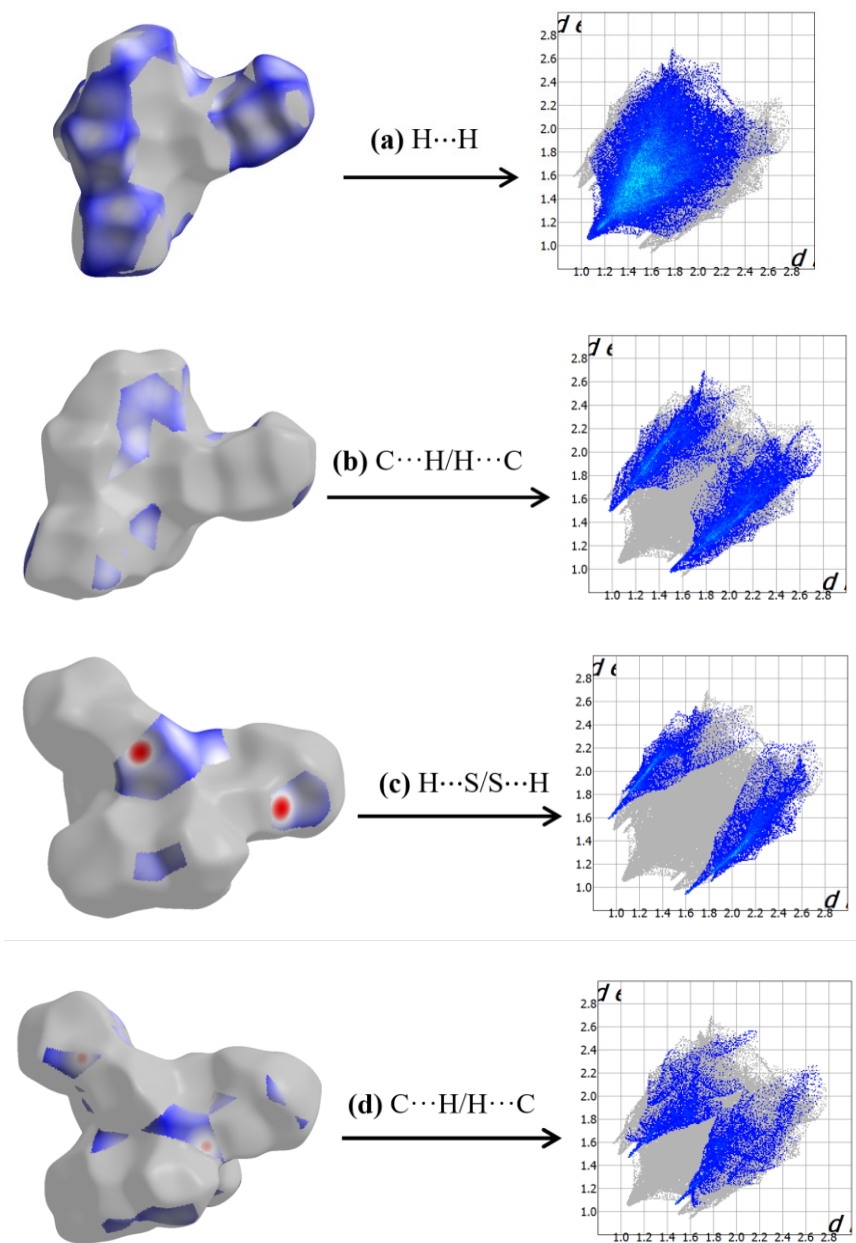
Figura 15 – Superfície *curvedness* do complexo **3**.



Fonte: o autor.

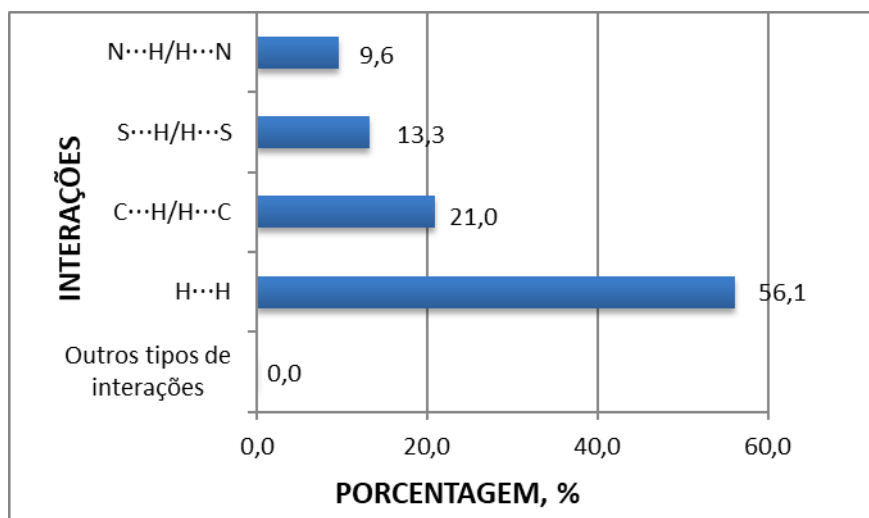
Os gráficos de impressão digital 2D (Figura 16) são úteis para analisar a contribuição relativa das interações intermoleculares. No complexo **3**, a maior contribuição das interações ocorre devido aos contatos não clássicos $H \cdots H$ e $C \cdots H/H \cdots C$ com cerca de 77%, conforme esperado para a quantidade de átomos de hidrogênio e ligações $C-H$ presentes no complexo. Entretanto, as ligações de hidrogênio $N \cdots H/H \cdots N$ e as interações $S \cdots H/H \cdots S$ (com cerca de 23% de contribuição) são os contatos mais importantes para a estabilização da rede cristalina, pois são as interações mais fortes presentes no complexo. A inspeção de contatos entre outros tipos de átomos apontou que não foram encontradas interações do tipo $\pi \cdots \pi$ (equivalente a contatos $C \cdots C$), visto que as somas das contribuições das interações citadas acima representam 100%, ou seja, as somas das contribuições de outros tipos de interações representam 0%, confirmando a ausência do empilhamento $\pi \cdots \pi$ na estrutura cristalina. A Figura 17 resume as contribuições percentuais selecionadas das interações intermoleculares presentes no complexo **3**.

Figura 16 – Superfície d_{norm} da contribuição relativa das interações intermoleculares (esquerda) e gráfico de impressão digital 2D (direita) das interações (a) H···H, (b) O···H/H···O, (c) C···H/H···C, (d) S···H/H···S, (e) N···H/H···N e (f) C···C do complexo **3**.



Nota: Os valores das distâncias d_i e d_e são mostrados em Å. Fonte: o autor.

Figura 17 – Contribuições percentuais das interações intermoleculares do complexo 3.



Fonte: o autor.

5.2 DOCKING MOLECULAR

O *docking* molecular foi utilizado para prever o modo de ligação dos ligantes (ligantes livres 1 e 2, complexos 3 e 4 e controle CHD) com as estruturas cristalinas das enzimas das bactérias. Este estudo pode ser usado para demonstrar a hipótese estrutural de como o ligante inibe um alvo, que neste trabalho foram bactérias bucais (MORRIS et al., 2009). Nesse contexto, os ligantes foram teoricamente investigados em microrganismos *S. mutans*, *S. mitis*, *S. sanguinis*, *L. paracasei* e *E. faecalis* para identificar possíveis interações.

Para a validação do protocolo realizado no *docking* molecular, o re-*docking* do ligante das proteínas e das bactérias foi realizado usando o valor de RMSD (*Root Mean Square deviation*) para analisar a precisão dos resultados. Para o *docking* molecular ser considerado válido, os valores de RMSD devem permanecer na faixa de 0–2 Å (THOMSEN, CHRISTENSEN, 2006). Além disso, foi observado se as interações padrão do ligante com a proteína, extraídas do próprio PDB, foram preservadas.

No *docking* molecular, o complexo 4 apresentou os melhores resultados de ΔG (alta afinidade de ligação) (Tabela 2) do que o complexo 3. Este complexo também apresentou melhores resultados para todas as bactérias quando comparado aos ligantes livres, exceto para *S. mitis*, e também apresentou melhores resultados para as bactérias *S. mutans*, *S. mitis* e *L. paracasei* quando comparado com o controle CHD. O complexo 3 mostrou melhores resultados apenas para *L. paracasei* e *E. faecalis*, quando comparado aos resultados apresentados pelos ligantes livres e para *S. mitis* quando comparado aos resultados apresentados pelo controle

CHD. Em relação aos ligantes livres **1** e **2**, todos os resultados de ΔG obtidos foram maiores do que o para o controle CHD, exceto para a bactéria *S. mitis* no qual o **2** apresentou maior afinidade que o análogo **1** e que a CHD. Os valores das constantes de inibição estimada (K_i) (Tabela 3) também refletem essas observações e mostram que os valores de inibição do complexo **4** está na ordem de nM, exceto para *S. mitis*.

Tabela 2 – Estimativas das energias de ligação (ΔG em kcal mol⁻¹) entre os ligantes e as estruturas das bactérias.

Bactéria	1	2	3	4	CHD ¹
<i>S. mutans</i>	-5,46	-6,16	-5,45	-8,95	-8,46
<i>S. mitis</i>	-6,60	-7,46	-3,69	-6,29	-3,03
<i>S. sanguinis</i>	-6,21	-7,60	-5,79	-8,68	-9,49
<i>L. paracasei</i>	-5,75	-6,53	-7,24	-10,09	-7,92
<i>E. faecalis</i>	-5,23	-6,47	-6,63	-8,92	-11,24

Nota: ¹Controle positivo para comparação. Fonte: o autor.

Tabela 3 – Resultados da constante de inibição (K_i) calculada dos ligantes.

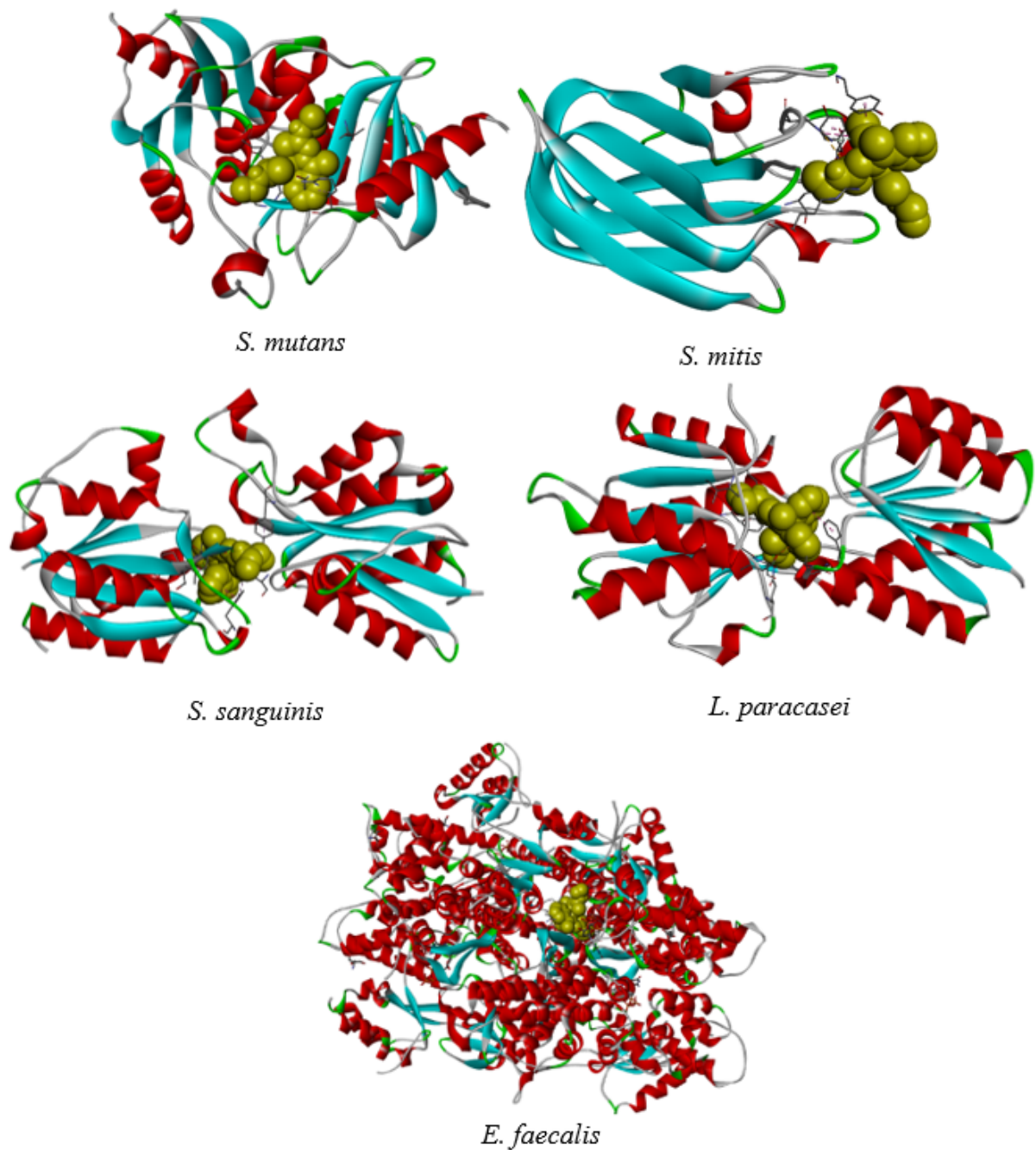
Bactéria	1	2	3	4	CHD ¹
<i>S. mutans</i>	99,35 uM	30,64 uM	100,43 uM	273,40 nM	1,58 uM
<i>S. mitis</i>	14,49 uM	3,40 uM	1,98 mM	24,35 uM	5,97 mM
<i>S. sanguinis</i>	27,93 uM	2,69 uM	57,40 uM	432,63 nM	111,36 nM
<i>L. paracasei</i>	60,59 uM	16,29 uM	4,91 uM	40,44 nM	5,75 uM
<i>E. faecalis</i>	145,71 uM	18,14 uM	13,73 uM	291,55 nM	634,24 nM

Nota: ¹Controle positivo para comparação. Fonte: o autor.

Nas Figura 18 a Figura 23 são mostradas as imagens das conformações das interações dos ligantes. É evidente a partir dos resultados obtidos que ambos os complexos, ligantes livres e o controle CHD podem ligar-se com sucesso a um ou mais aminoácidos de todas as bactérias (*S. mutans*, *S. mitis*, *S. sanguinis*, *L. paracasei* e *E. faecalis*). Os resultados de ΔG obtidos para o complexo **4** foram altamente exergônicos o que revela boa orientação e afinidade de ligação. Os valores de ΔG entre o complexo **4** e as bactérias foram de $-10,09$ kcal mol⁻¹ para *L. paracasei*, seguida por $-8,95$ kcal mol⁻¹ para *S. mutans* e o maior valor de ΔG foi para a bactéria *S. mitis* ($-6,29$ kcal mol⁻¹). Os valores de ΔG entre o complexo **3** e as bactérias foram de $-7,24$ kcal mol⁻¹ para *L. paracasei*, seguida por $-6,63$ kcal mol⁻¹ para *E. faecalis* e o maior valor de

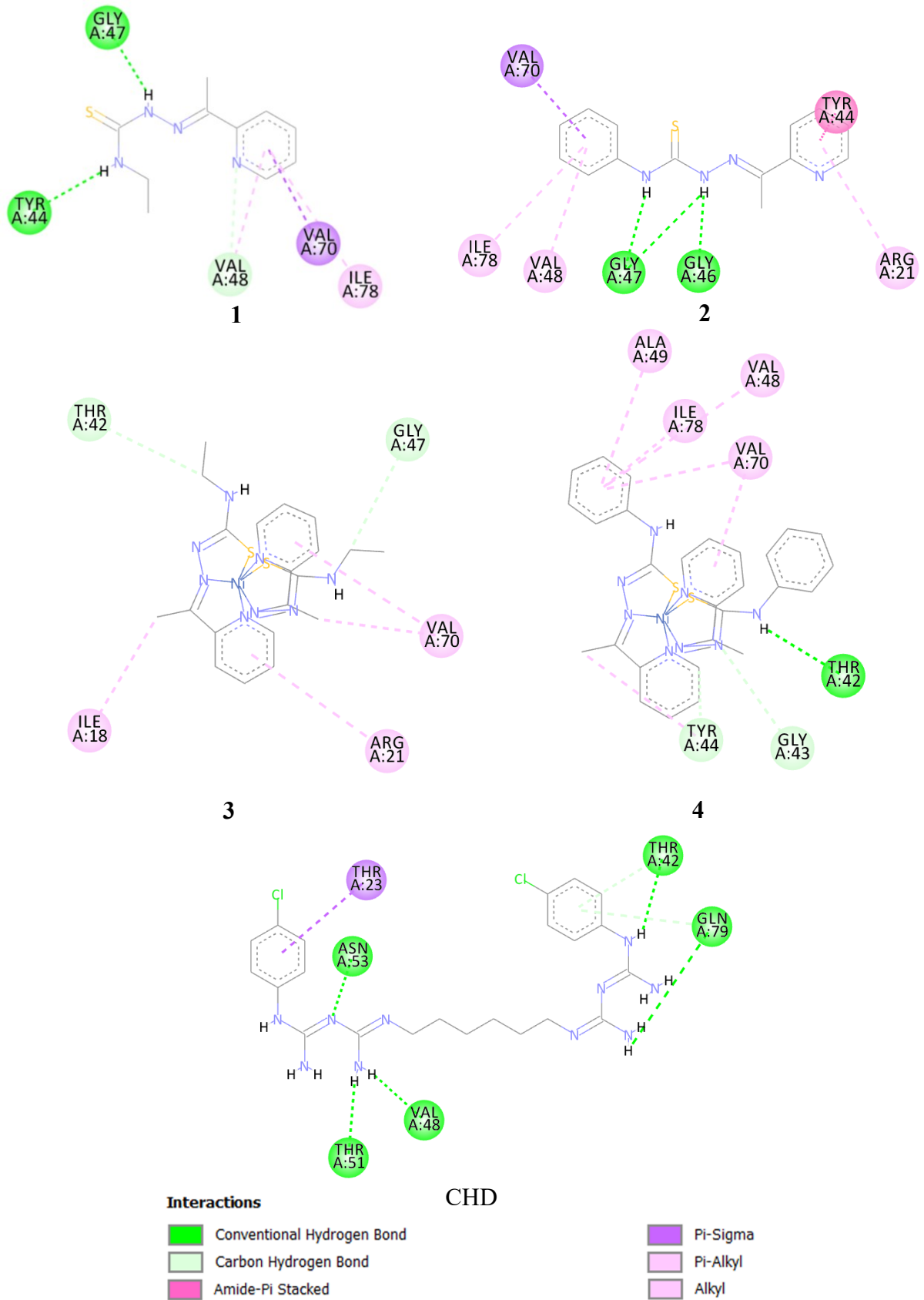
ΔG foi a bactéria *S. mitis* ($-3,69 \text{ kcal mol}^{-1}$). Por outro lado, os melhores valores de ΔG entre CHD e as bactérias foram para *E. faecalis* ($-11,24 \text{ kcal mol}^{-1}$), seguida por *S. sanguinis* ($-9,49 \text{ kcal mol}^{-1}$) e o maior valor foi para *S. mitis* ($-3,03 \text{ kcal mol}^{-1}$). Esses resultados mostram que o substituinte fenil é mais favorável do que o etil na inibição da bactéria. Estes resultados estão de acordo com outros trabalhos relatados na literatura pelo grupo de estudo da Profa. Dr. Carolina Gonçalves (UFU) que demonstram maior atividade *in vitro* pra complexos derivados de tiossemicarbazonas contendo o grupamento fenil (FERNANDES et al., 2020). Por outro lado, os valores de ΔG entre os complexos e as bactérias *L. paracasei*, *E. faecalis* e *S. mutans* foi menor em comparação com a energia da interação com os respectivos ligantes livres, sugerindo melhores inibições do par de complexos, fato observado para outros complexos metálicos na literatura (GÖRGÜLÜ, CICEK, DEDE, 2018; PAHONÇU et al., 2019; FERNANDES et al., 2020).

Figura 18 – Estrutura cristalina 3D da enzima das bactérias *S. mutans*, *S. mitis*, *S. sanguinis*, *L. paracasei* e *E. faecalis* com um ligante genérico no sítio ativo após o *docking* molecular.



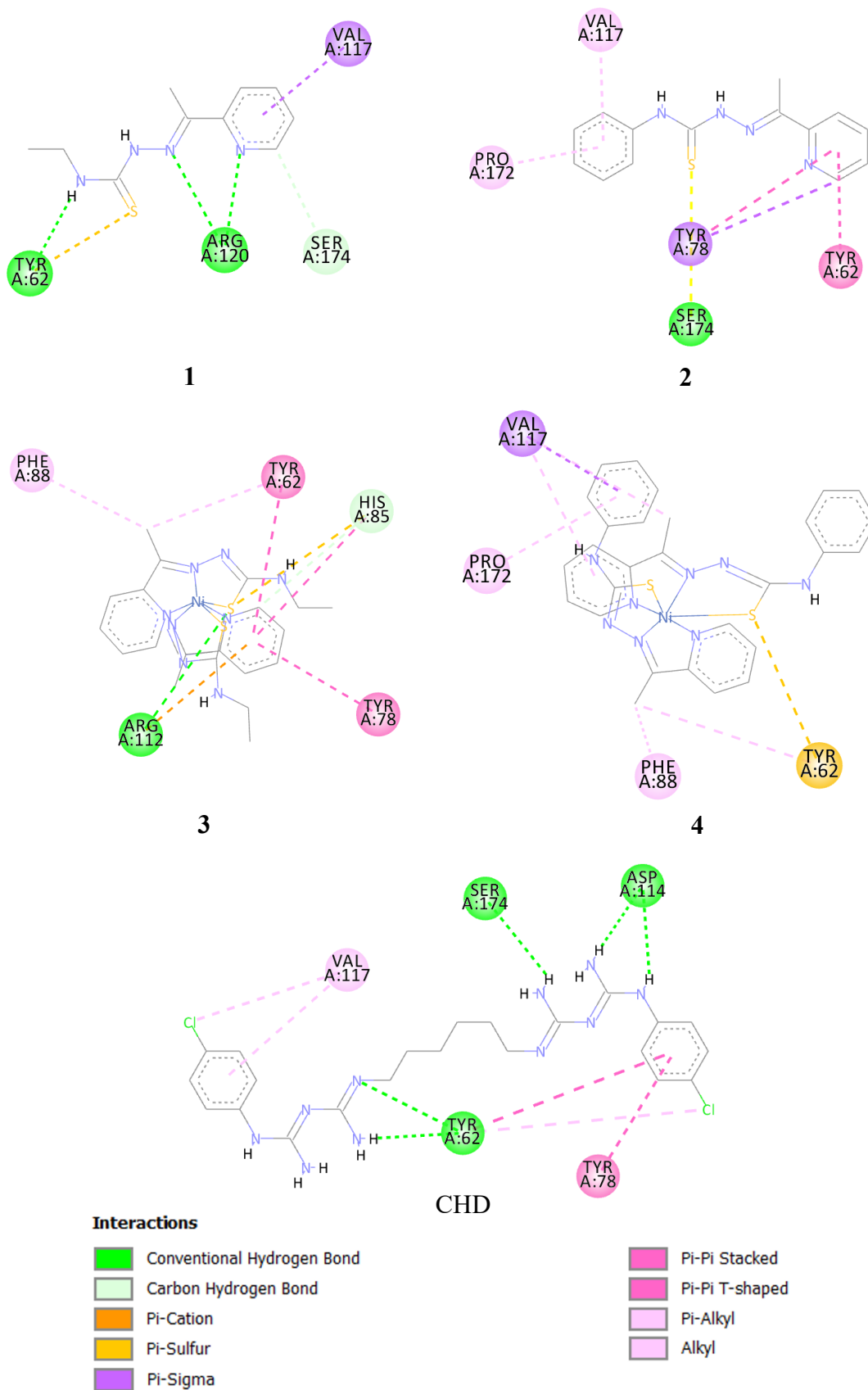
Nota: o ligante é a estrutura de cor amarela. Fonte: o autor.

Figura 19 – Rede de interação entre os ligantes e a estrutura cristalina de *S. mutans*.



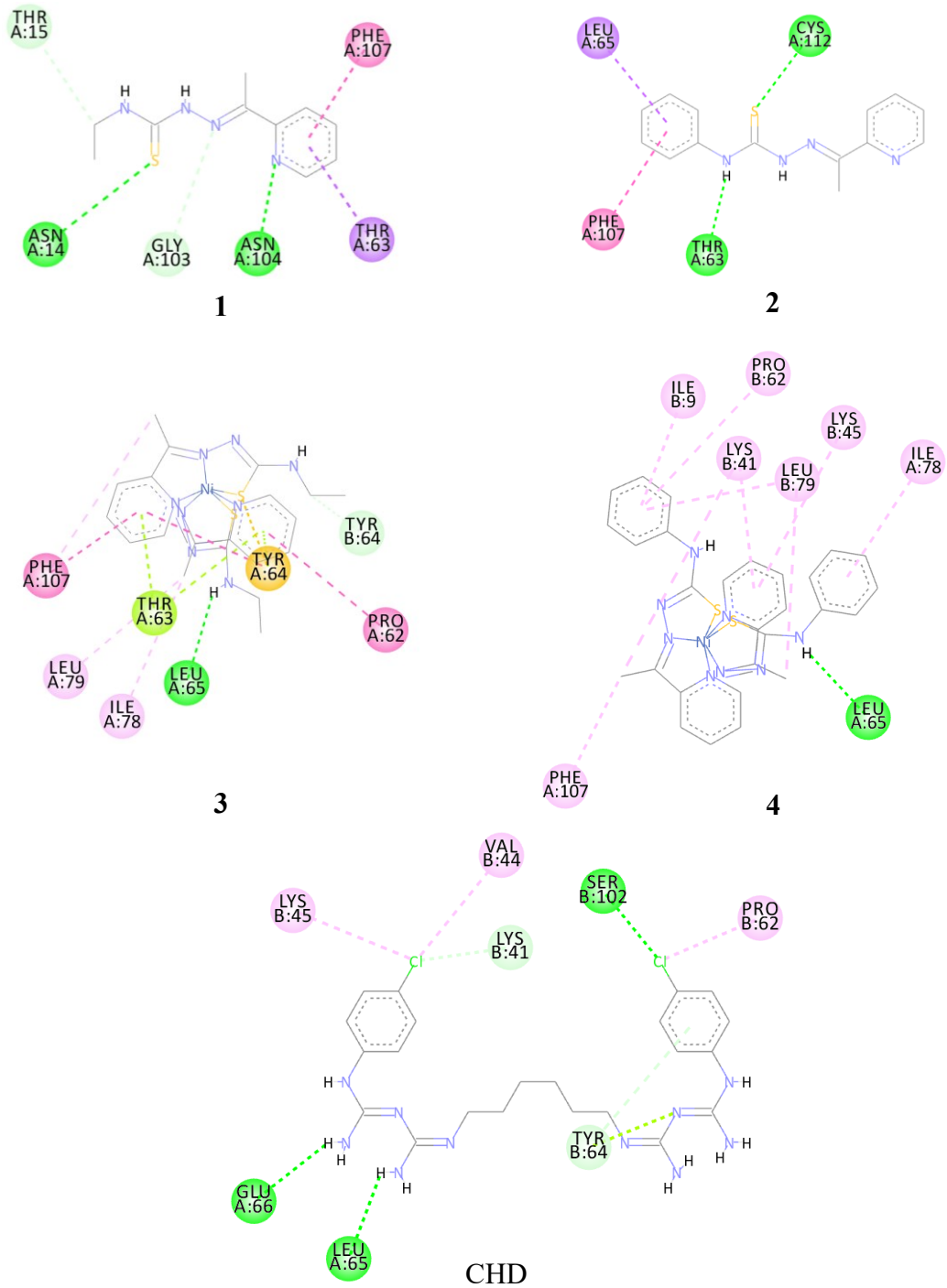
Nota: Para maior clareza, os átomos de hidrogênio não polares foram omitidos. Thr = *Threonine*, Gly = *Glycine*, Tyr = *Tyrosine*, Asn = *Asparagine*, Val = *Valine*, Gln = *Glutamine*. Fonte: o autor.

Figura 20 – Rede de interação entre os ligantes a estrutura cristalina de *S. mitis*.



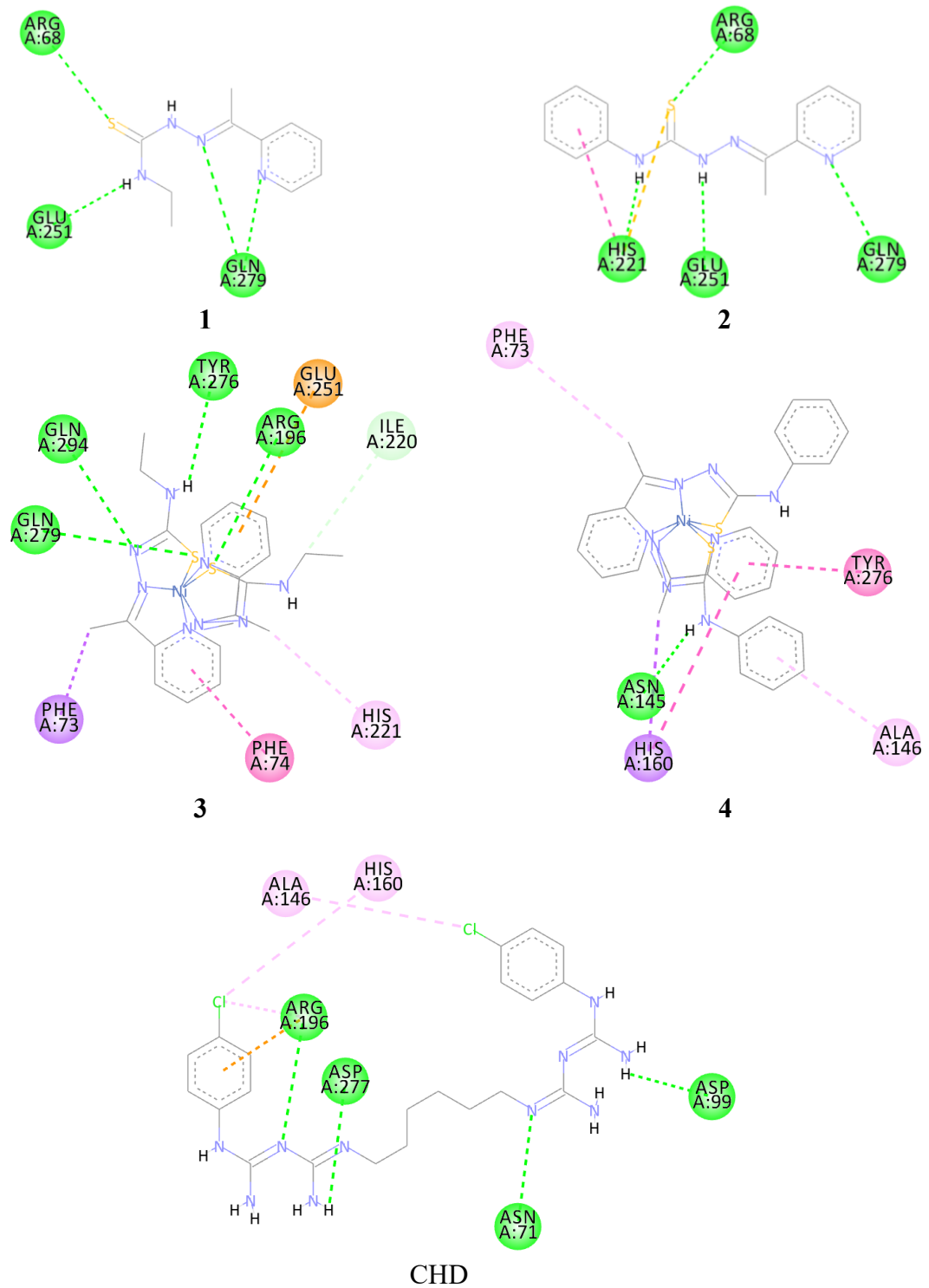
Nota: Para maior clareza, os átomos de hidrogênio não polares foram omitidos. Arg = *Arginine*, Tyr = *Tyrosine*, Ser = *Serine*, His = *Histidine*. Fonte: o autor.

Figura 21 – Rede de interação entre os ligantes e a estrutura cristalina de *S. sanguinis*.




Nota: Para maior clareza, os átomos de hidrogênio não polares foram omitidos. Leu = *Leucine*, Asn = *Asparagine*, Cys = *Cysteine*, Thr = *Threonine*, Glu = *Glutamate*, Ser = *Serine*, Phe = *Phenylalanine*, Pro = *Proline*, Tyr = *Tyrosine*. Fonte: o autor.

Figura 22 – Rede de interação entre os ligantes e a estrutura cristalina de *L. paracasei*.

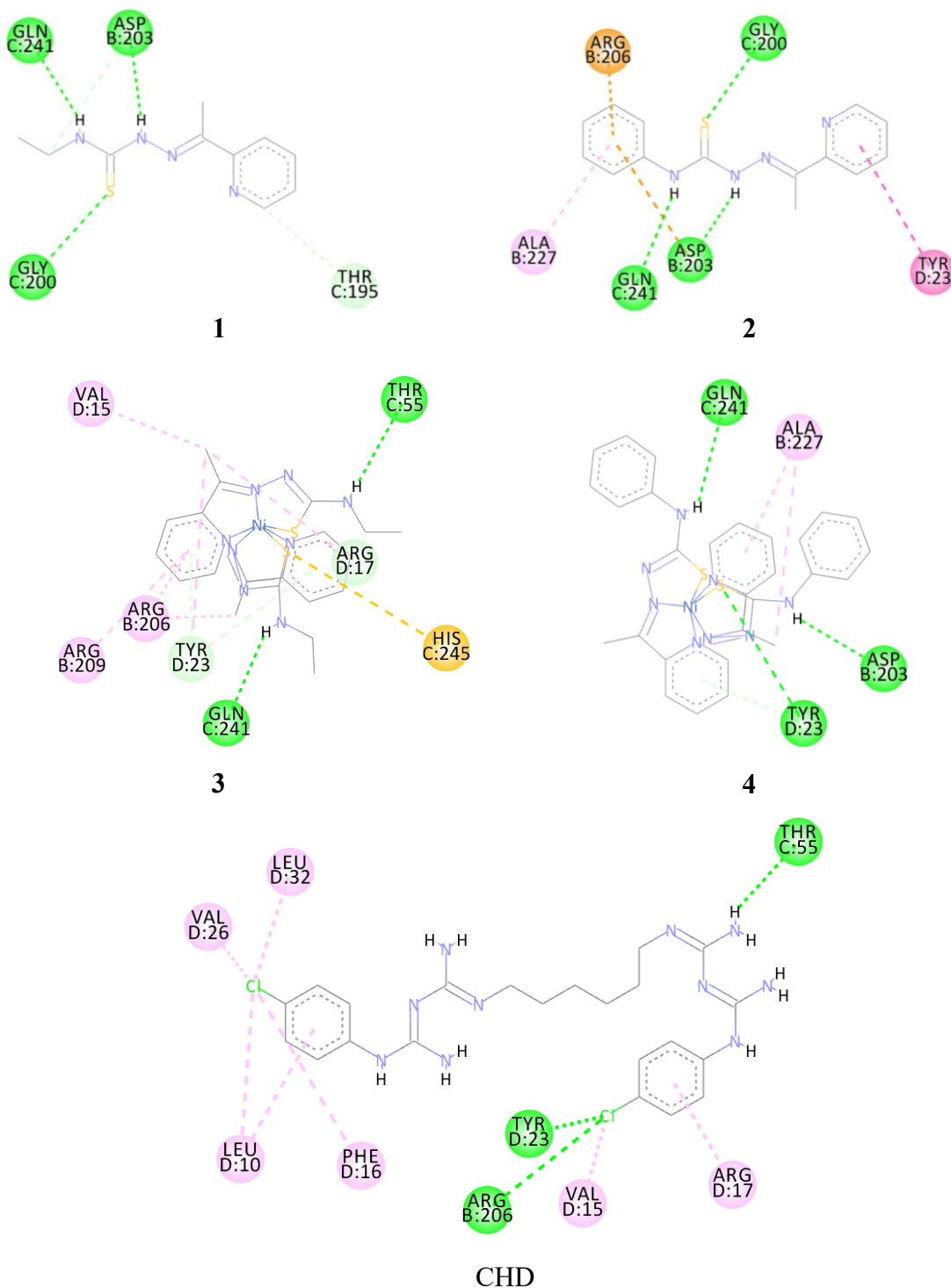


Interactions

- | | |
|--|--|
|  Conventional Hydrogen Bond |  Pi-Sigma |
|  Carbon Hydrogen Bond |  Pi-Pi T-shaped |
|  Pi-Anion |  Pi-Alkyl |

Nota: Para maior clareza, os átomos de hidrogênio não polares foram omitidos. Tyr = Tyrosine, Gln = Glutamine, Arg = Arginine, Asn = Asparagine, His = Histidine, Glu = Glutamate, Phe = Phenylalanine. Fonte: o autor.

Figura 23 – Rede de interação entre os ligantes e a estrutura cristalina de *E. faecalis*.



Interactions

	Conventional Hydrogen Bond		Pi-Pi Stacked
	Carbon Hydrogen Bond		Pi-Pi T-shaped
	Pi-Donor Hydrogen Bond		Alkyl
	Pi-Sulfur		Pi-Alkyl
	Pi-Cation		Pi-Anion

Nota: Para maior clareza, os átomos de hidrogênio não polares foram omitidos. Gln = *Glutamine*, Thr = *Threonine*, Tyr = *Tyrosine*, Asp = *Asparagine*, Arg = *Arginine*, His = *Histidine*. Fonte: o autor.

Em quase todos os sistemas investigados foram encontrados predominantemente ligações de hidrogênio, interações π - π , π -alquil ou π -enxofre (Tabela 4 a Tabela 8). A conformação mais favorável entre o complexo **4** e *L. paracasei* (Figura 22) mostra uma ligação de hidrogênio forte (1,91 Å de comprimento) envolvendo o grupo N-H da TSC e um átomo de oxigênio do aminoácido Asn 145. Além disso, são observadas duas interações π - π entre os anéis fenil do complexo e os anéis fenil dos aminoácidos Tyr 76 e His 160. Da mesma forma, o complexo **3** (Figura 22) mostra uma ligação de hidrogênio forte (2,24 Å de comprimento) envolvendo o grupo NH do ligante TSC e um átomo de oxigênio do aminoácido Tyr 276, além de outras duas ligações de hidrogênio longas. Além disso, observa-se uma interação π - π entre o anel fenil do complexo e os anéis fenil do aminoácido Phe 74. Essas ligações de hidrogênio curtas podem justificar o fato de que os resultados de ΔG de *L. paracasei* foram melhores em comparação com as outras bactérias. Mais detalhes sobre as interações intermoleculares e distâncias das ligações de hidrogênio, π - π e π -S dos complexos de níquel, ligantes livres e controle com os resíduos de aminoácidos de todas as bactérias são mostrados nas Tabela 4 a Tabela 8.

Tabela 4 – Localização das interações intermoleculares e distâncias das ligações de hidrogênio, π - π e π -S dos ligantes com os resíduos de aminoácidos da bactéria *S. mutans*.

Ligante	Localização da ligação de H (Å)	Localização da interação π - π (Å)	Localização da interação π -S (Å)
1	N-H com O da Gly 47 (1,94 Å)	-	-
	N-H com O da Tyr 44 (1,98 Å)		
2	N-H com O da Gly 47 (2,01 Å e 3,03 Å)	-	S com Ph da Tyr 44 (4,57 Å)
	N-H com O da Gly 46 (1,96 Å)		
3	N-H com O da Thr 42 (2,07 Å)	-	-
4	-	Ph com Tyr 78 (4,83 Å)	-
CHD	N com N-H da Asn 53 (1,96 Å)	-	-
	N-H com O da Thr 51 (1,84 Å)		
	N-H com O da Val 48 (1,54 Å)		
	N-H com O da Thr 42 (1,89 Å)		
	N-H com O da Gln 79 (2,95 Å)		

Nota: Thr = *Threonine*, Gly = *Glycine*, Tyr = *Tyrosine*, Asn = *Asparagine*, Val = *Valine*, Gln = *Glutamine*. Fonte: o autor.

Tabela 5 – Localização das interações intermoleculares e distâncias das ligações de hidrogênio, π - π e π -S dos ligantes com os resíduos de aminoácidos da bactéria *S. mitis*.

Ligante	Localização da ligação de H (Å)	Localização da interação π - π (Å)	Localização da interação π -S (Å)
1	N com N-H da Arg 120 (3,36 Å e 2,78 Å) N-H com O da Tyr 62 (1,71 Å)	–	S com Ph da Tyr 62 (5,22 Å)
2	S com O-H da Ser 174 (3,79 Å)	Ph com Tyr 78 (4,97 Å) e Tyr 62 (3,88 Å)	–
3	S com N-H da Arg 112 (2,38 Å)	Ph com Tyr 78 (4,44 Å) e Tyr 62 (4,44 Å)	S com o imidazol da His 85 (5,41 Å)
4	–	–	S com Ph da Tyr 44 (5,22 Å)
CHD	N com O-H da Tyr 62 (2,72 Å) N-H com O da Tyr 62 (1,71 Å)	Ph com Tyr 78 (5,22 Å) e Tyr 62 (5,13 Å)	–

Nota: Arg = Arginine, Tyr = Tyrosine, Ser = Serine, His = Histidine. Fonte: o autor.

Tabela 6 – Localização das interações intermoleculares e distâncias das ligações de hidrogênio, π - π e π -S dos ligantes com os resíduos de aminoácidos da bactéria *S. sanguinis*.

Ligante	Localização da ligação de H (Å)	Localização da interação π - π (Å)	Localização da interação π -S (Å)
1	N com N-H da Asn 14 (3,66 Å)	Ph com Phe 107 (4,12 Å)	–
	N com N-H da Asn 104 (2,77 Å)		
2	S com N-H da Cys 112 (3,49 Å)	Ph com Phe 107 (3,83 Å)	–
	N-H com O da Thr 63 (2,04 Å)		
3	N-H com O da Leu 65 (2,20 Å)	Ph com Phe 107 (3,64 Å) e Pro 62 (5,84 Å)	S com Ph da Tyr 64 (5,41 Å)
4	N-H com O da Leu 65 (2,00 Å)	–	–
	N-H com O da Leu 65 (2,06 Å e 2,27 Å)		
CHD	N-H com O-H da Glu 66 (2,26 Å)	Ph com Tyr 64 (4,73 Å)	–
	Cl com O-H da Ser 102 (2,25 Å)		

Nota: Leu = *Leucine*, Asn = *Asparagine*, Cys = *Cysteine*, Thr = *Threonine*, Glu = *Glutamate*, Ser = *Serine*, Phe = *Phenylalanine*, Pro = *Proline*, Tyr = *Tyrosine*. Fonte: o autor.

Tabela 7 – Localização das interações intermoleculares e distâncias das ligações de hidrogênio, π - π e π -S dos ligantes com os resíduos de aminoácidos da bactéria *L. paracasei*.

Ligante	Localização da ligação de H (Å)	Localização da interação π - π (Å)	Localização da interação π -S (Å)
1	–	–	–
2	N–H com O da His 221 (1,83 Å)		
	N–H com O da Glu 251 (2,03 Å)		
	S com N–H da Arg 68 (3,13 Å)	Ph com Phe 74 (5,74 Å)	S com o imidazol da His 221 (5,22 Å)
	N com N–H da Gln 279 (2,86 Å)		
	N–H com O da Tyr 276 (2,24 Å)		
3	S com N–H da Gln 279 e Arg 196 (3,51 Å e 3,33 Å)	Ph com Phe 74 (4,40 Å)	–
	N com N–H da Gln 294 (2,66 Å)		
4	N–H com O da Asn 145 (1,91 Å)	Ph com Tyr 76 (3,91 Å) e His 160 (5,40 Å)	–
	N com N–H da Gln 79 (2,74 Å e 3,06 Å)		
CHD	N–H com O da Glu 251 (2,06 Å)	–	–
	S com N–H da Arg 68 (3,32 Å)		

Nota: Tyr = Tyrosine, Gln = Glutamine, Arg = Arginine, Asn = Asparagine, His = Histidine, Glu = Glutamate, Phe = Phenylalanine. Fonte: o autor.

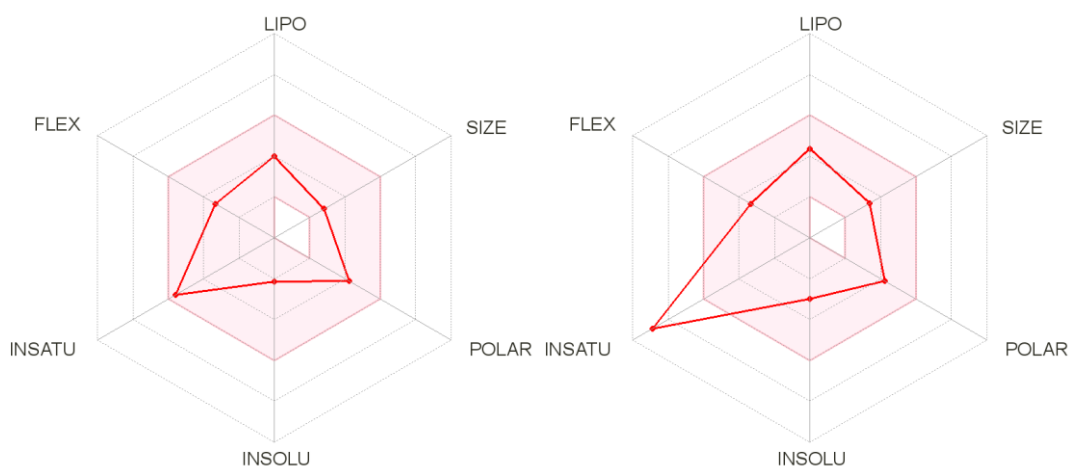
Tabela 8 – Localização das interações intermoleculares e distâncias das ligações de hidrogênio, π - π e π -S dos ligantes com os resíduos de aminoácidos da bactéria *E. faecalis*.

Ligante	Localização da ligação de H (Å)	Localização da interação π - π (Å)	Localização da interação π -S (Å)
1	S com N-H da Gly 200 (2,03 Å)		
	N-H com O da Gln 241 (3,18 Å)	–	–
	N-H com O da Asp 203 (1,87 Å)		
2	S com N-H da Gly 200 (3,07 Å)		
	N-H com O da Gln 241 (2,09 Å)	Ph com Tyr 23 (4,98 Å)	–
	N-H com O da Asp 203 (1,95 Å)		
3	N-H com O da Gln 241 (1,96 Å)	Ph com Tyr 23 (4,82 Å e 5,13 Å)	S com o imidazol da His 245 (4,84 Å)
	N-H com O da Thr 55 (2,16 Å)		
4	S com O-H da Tyr 23 (2,77 Å)		
	N-H com O da Asp 203 (2,07 Å)	–	S com Ph da Tyr 23 (5,20 Å)
	N-H com O da Gln 241 (2,19 Å)		
CHD	N-H com O da Thr 55 (2,89 Å e 2,95 Å)		
	Cl com O-H da Tyr 23 (3,15 Å)	–	–
	Cl com N-H da Arg 206 (2,97 Å)		

Nota: Gln = *Glutamine*, Thr = *Threonine*, Tyr = *Tyrosine*, Asp = *Asparagine*, Arg = *Arginine*, His = *Histidine*. Fonte: o autor.

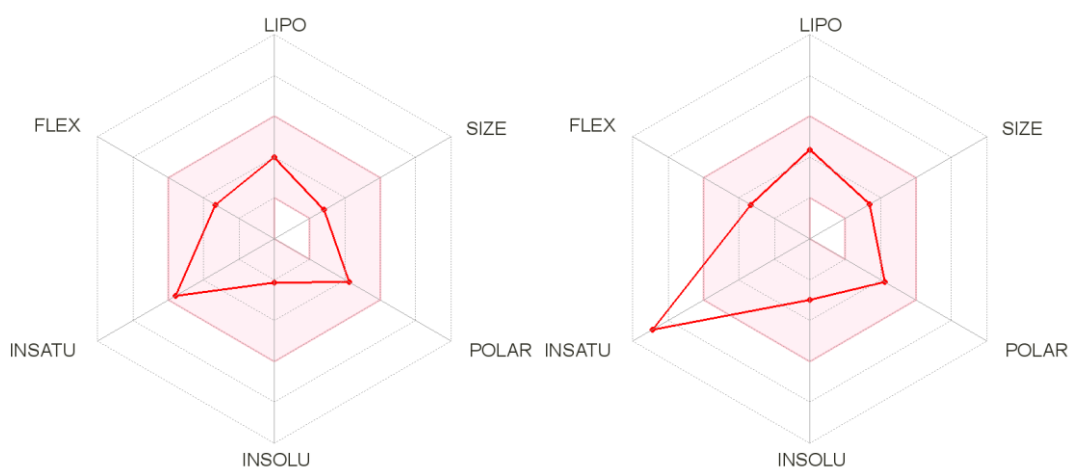
5.3 ANÁLISE *IN SILICO* DOS PARÂMETROS FARMACOCINÉTICOS DE ADME

As propriedades farmacocinéticas de ADME (absorção, distribuição, metabolismo e excreção) (DOOGUE, POLASEK, 2013) são ferramentas úteis na fase inicial do processo de descoberta de medicamentos. Neste contexto, a previsão *in silico* de parâmetros farmacocinéticos de ADME, como físico-químicos, biodisponibilidade e farmacocinética com base em Lipinski, Ghose, Veber e Egan (Tabela 10 e Tabela 9), absorção intestinal humana (HIA), penetração da barreira hematoencefálica (BBB), inibição das isoenzimas pertencentes ao sistema CYP450 (Tabela 11) fornecem informações úteis na avaliação de candidatos a novos fármacos (DAINA, MICHIELIN, ZOETE, 2017). Neste trabalho, um estudo *in silico* dos parâmetros farmacocinéticos de ADME dos ligantes livres **1** e **2** e complexos **3** e **4** foi realizado. Conforme observado no radar de biodisponibilidade (Figura 24 – Estudo *in silico* para demonstrar o potencial dos ligantes livres Hatc-R como novos compostos candidatos a fármacos usando a ferramenta SwissADME.



Nota: a área vermelha representa a faixa ideal para cada propriedade. Fonte: Daina, Michielin, Zoete, 2017.

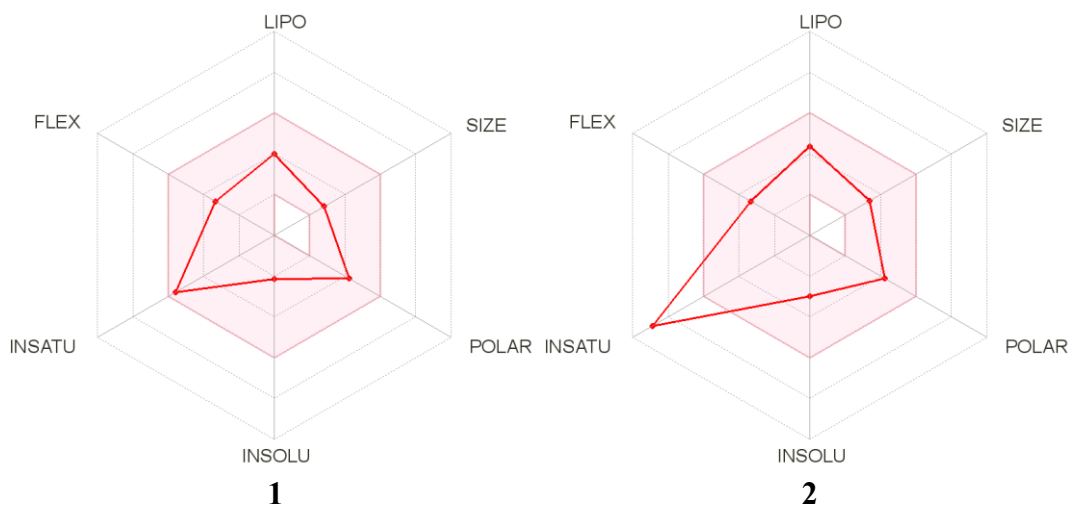
Figura 25 e Figura 24), o ligante livre **1** e o complexo **3** demonstraram boa aderência a todos os parâmetros avaliados enquanto o ligante livre **2** e o complexo **4** apresentaram alguns parâmetros fora da faixa ideal das propriedades avaliadas (Figura 24 – Estudo *in silico* para demonstrar o potencial dos ligantes livres Hatc-R como novos compostos candidatos a fármacos usando a ferramenta SwissADME.



Nota: a área vermelha representa a faixa ideal para cada propriedade. Fonte: Daina, Michielin, Zoete, 2017.

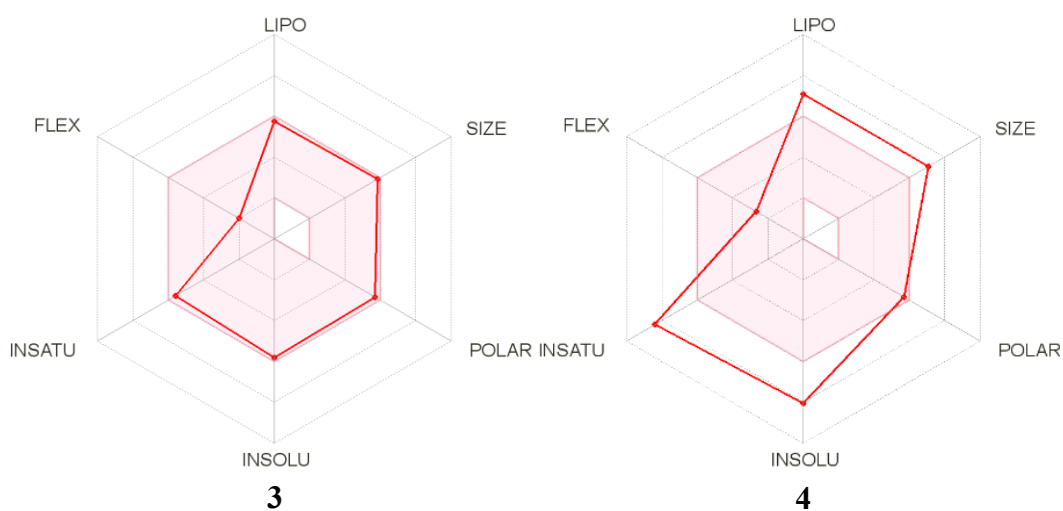
Figura 25 e Figura 24).

Figura 24 – Estudo *in silico* para demonstrar o potencial dos ligantes livres Hatc-R como novos compostos candidatos a fármacos usando a ferramenta SwissADME.



Nota: a área vermelha representa a faixa ideal para cada propriedade. Fonte: Daina, Michielin, Zoete, 2017.

Figura 25 – Estudo *in silico* para demonstrar o potencial dos complexos $[Ni(atc-R)_2]$ como novos compostos candidatos a fármacos usando a ferramenta SwissADME.



Nota: a área vermelha representa a faixa ideal para cada propriedade. Fonte: Daina, Michielin, Zoete, 2017.

A massa molecular de uma substância é um parâmetro importante. Neste sentido, quanto maior a massa molecular, maior o volume da substância, e mais difícil é a passagem da molécula para o meio intracelular. A massa molecular dos complexos **3** e **4** são 501,30 e 597,38 g mol⁻¹, respectivamente. Ambos os resultados não estão em acordo com a regra de Lipinski e Ghose. Outro parâmetro importante é o Log P, relacionado à lipossolubilidade de um determinado composto e a capacidade de atravessar membranas plasmáticas. O Log P para o complexo com o substituinte fenil (3,03) foi maior do que o com o etil (1,43), como esperado, sendo ambos valores aceitos pelas regras de Lipinski (Log P_{o/w} ≤ 5), Ghose (Log P_{o/w} ≤ 5,6) e Egan (Log P_{o/w} ≤ 5,8). Os resultados apresentados na Tabela 10 para o número de aceptores e doadores de hidrogênio correspondem à regra de Lipinski, com valores de 2 para ambos os compostos. Portanto, de acordo com a regra de Lipinski, ambos complexos apresentam excelente biodisponibilidade oral teórica. Veber apresenta dois parâmetros essenciais para as moléculas serem administradas por via oral, que são a área de superfície polar topológica (TPSA) ≤ 140 Å² e o número de conexões rotativas. As moléculas em estudo apresentaram um TPSA de 133,96 Å² e o número de conexões rotativas é 4; portanto, as estruturas poderiam ser apropriadas para serem utilizadas por via oral. A solubilidade em água é outra característica importante para a absorção e distribuição de um fármaco no organismo. O Log S (ALI et al., 2012) de ambos os complexos indica que eles são pouco solúveis em água de acordo com as classes apresentadas na Tabela 10.

Os ligantes livres **1** e **2** (Tabela 9) também foram avaliados e os resultados indicam que ambos os compostos estão de acordo com as regras de Lipinski, Ghose, Veber e Egan. Além

disso, apresentam boa solubilidade e características apropriadas para serem utilizadas por via oral.

Tabela 9 – Parâmetros físico-químicos dos ligantes livres 1 e 2.

Parâmetros	3	4
Propriedades físico-químicas		
Fórmula molecular	C ₁₀ H ₁₄ N ₄ S	C ₁₄ H ₁₄ N ₄ S
Massa molecular (MM)	222,31 g mol ⁻¹	270,35 g mol ⁻¹
Num. Átomos pesados	15	19
Num. de ligações giratórias	5	5
Num. Lig. H doadores	2	2
Num. De H aceptores	2	2
Refratividade molar (RM)	65,51	81,92
TPSA ¹	81,40 Å ²	81,40 Å ²
Lipofilicidade		
Consenso ² Log P _{o/w} ³	1,68	2,49
Solubilidade em água		
Log S (Ali)	-2,82	-3,44
Classe ⁴	Solúvel	Solúvel
Regras		
Lipinski ⁵	Sim	Sim
Ghose ⁶	Sim	Sim
Veber ⁷	Sim	Sim
Egan ⁸	Sim	Sim
Pontuação de biodisponibilidade ⁹	0,55	0,55

Nota: ¹ TPSA: Área de superfície polar topológica; ² Log de consenso P_{o/w} = média de todas as cinco previsões; ³

Log P_{o/w} = coeficiente de partição entre *n*-octanol/água; ⁴ Classe = Todas as classes: insolúvel < -10 < pouco solúvel < -6 < moderadamente solúvel < -4 < solúvel < -2 < muito solúvel < 0 < altamente; ⁵ Lipinski = MM ≤ 500; Log P_{o/w} ≤ 5; Doadores de ligação H ≤ 5; Aceitadores de ligação H ≤ 10; ⁶ Ghose = 180 ≤ MM ≤ 480; 20 ≤ No. de átomos ≤ 70; 40 ≤ Refratividade molar ≤ 130; -0,4 ≤ Log P_{o/w} ≤ 5,6; ⁷ Veber = Num. ligações giratórias ≤ 10; TPSA ≤ 140 Å²; ⁸ Egan = Log P_{o/w} ≤ 5,88; TPSA ≤ 131,6 Å²; ⁹ Pontuação de biodisponibilidade: 0,55 se for aprovado na regra de cinco de Lipinski e 0,17 se falhar (MARTIN, 2005). Fonte: o autor.

Tabela 10 – Parâmetros físico-químicos dos complexos 3 e 4.

Parâmetros	3	4
------------	---	---

Propriedades físico-químicas		
Fórmula molecular	C ₂₀ H ₂₆ N ₈ S ₂ Ni	C ₂₈ H ₂₆ N ₈ S ₂ Ni
Massa molecular (MM)	501,30 g mol ⁻¹	597,38 g mol ⁻¹
Num. Átomos pesados	31	39
Num. de ligações giratórias	4	4
Num. Lig. H doadores	2	2
Num. De H aceptores	2	2
Refratividade molar (RM)	143,58	176,40
TPSA ¹	133,96 Å ²	133,96 Å ²
Lipofilicidade		
Consenso ² Log P _{o/w} ³	1,43	3,03
Solubilidade em água		
Log S (Ali)	-6,80	-9,27
Classe ⁴	Pouco	Pouco
Regras		
Lipinski ⁵	1 violação: MM>500	1 violação: MM>500
Ghose ⁶	2 violações: MM>480, RM>130	2 violações: MM>480, RM>130
Veber ⁷	Sim	Sim
Egan ⁸	1 violação: TPSA>131,6	1 violação: TPSA>131,6
Pontuação de biodisponibilidade ⁹	0,55	0,55

Nota: ¹ TPSA: Área de superfície polar topológica; ² Log de consenso P_{o/w} = média de todas as cinco previsões; ³

Log P_{o/w} = coeficiente de partição entre *n*-octanol/água; ⁴ Classe = Todas as classes: insolúvel < -10 < pouco solúvel < -6 < moderadamente solúvel < -4 < solúvel < -2 < muito solúvel < 0 < altamente; ⁵ Lipinski = MM ≤ 500; Log P_{o/w} ≤ 5; Doadores de ligação H ≤ 5; Aceitadores de ligação H ≤ 10; ⁶ Ghose = 180 ≤ MM ≤ 480; 20 ≤ No. de átomos ≤ 70; 40 ≤ Refratividade molar ≤ 130; -0,4 ≤ Log P_{o/w} ≤ 5,6; ⁷ Veber = Num. ligações giratórias ≤ 10; TPSA ≤ 140 Å²; ⁸ Egan = Log P_{o/w} ≤ 5,88; TPSA ≤ 131,6 Å²; ⁹ Pontuação de biodisponibilidade: 0,55 se for aprovado na regra de cinco de Lipinski e 0,17 se falhar (MARTIN, 2005). Fonte: o autor.

No entanto, esse estudo teórico pode ser em alguns casos contraditório, pois alguns outros medicamentos também violam regras específicas e continuam sendo usados como medicamentos, como ivermectina, tenofovir disoproxil fumarato (TDF), ceftadizima etc. A

CHD usada como controle em ensaios bactericidas e enxaguantes bucais, quando avaliada no SwissADME apresenta baixa solubilidade teórica ($\text{Log } S = -6,09$) e quebra a regra de Lipinski ($\text{MM} > 500$, NH ou $\text{OH} > 5$), Ghose ($\text{MM} > 480$, $\text{RM} > 130$, No. de átomos > 70), Veber ($\text{TPSA} > 140$) e Egan ($\text{TPSA} > 131,6$). Embora este seja um estudo inicial, esses resultados podem ser úteis para estudos futuros no caso de avaliação da absorção e biodistribuição desses complexos no organismo humano.

Os ligantes livres **1** e **2** e complexos **3** e **4** também foram avaliados quanto à absorção intestinal humana (HIA), penetração na barreira hematoencefálica (BBB), inibição das isoenzimas pertencentes ao sistema CYP450 e acessibilidade sintética (AS) (Tabela 11). O HIA é um parâmetro interessante na conveniência de dosar um candidato a fármaco, pois um valor de HIA alto denota que o composto pode ser melhor absorvido pelo intestino humano após administração oral (NISHA et al., 2016). Os resultados mostraram que o complexo **3** e os ligantes livres **1** e **2** tiveram maior absorção no intestino do que o **4**. Os parâmetros farmacocinéticos também revelaram que nenhum dos compostos é capaz de atravessar a barreira hematoencefálica, necessária para evitar efeitos colaterais no sistema nervoso central (DE LANGE, DANHOF, 2002).

O metabolismo dos fármacos envolve um conjunto de reações de biotransformação que geralmente transformam essas moléculas em compostos químicos mais polares, de modo que são eliminadas pela urina. A inibição das isoenzimas pertencentes ao sistema CYP450 é uma das principais causas de interações medicamentosas, efeitos adversos ou tóxicos devido à menor purificação e acúmulo do fármaco ou de seus metabólitos no organismo (KIRCHMAIR et al., 2015). As análises dos dados do metabolismo mostram que nenhum dos compostos inibe as isoenzimas CYP2D6 e CYP3A4 pertencentes ao sistema CYP450. Além disso, a Tabela 11 apresenta dados sobre a AS, parâmetro que varia de 1 (moléculas facilmente sintetizadas) a 10 (moléculas dificilmente sintetizadas) (DAINA, MICHIELIN, ZOETE, 2017) e conclui-se que os compostos possuem AS abaixo de 5, indicando que podem ser facilmente sintetizados.

Tabela 11 – Dados sobre as principais propriedades farmacocinéticas dos ligantes livres **1** e **2**, complexos **3** e **4** e controle CHD.

Complexo	HIA¹	BBB²	Inibidor CYP3A4	Inibidor CYP2D6	AS³
1	Alto	Não	Não	Não	2,58

2	Alto	Não	Não	Não	2,76
3	Alto	Não	Não	Não	4,74
4	Baixo	Não	Não	Não	5,01
CHD	Baixo	Não	Não	Não	3,64

Nota: ¹HIA: absorção intestinal humana, ²BBB: penetração da barreira hematoencefálica e ³AS: acessibilidade sintética. Fonte: o autor.

Portanto, os resultados *in silico* dos compostos avaliados desta análise preliminar suportam o potencial dos complexos **3** e **4** como candidatos a fármaco, uma vez que, com exceção da solubilidade e massa molar, apresentam parâmetros farmacocinéticos que sugerem boa absorção e biodistribuição. Embora se trate de um estudo preliminar, esses resultados servem de base para estudos futuros.

6 CONCLUSÕES

Neste trabalho, as interações presentes no complexo **3** foram analisadas através das superfícies de Hirshfeld e os ligantes livres **1** e **2** e complexos **3** e **4** foram submetidos ao estudo de *docking* molecular tendo como alvo biológico bactérias bucais. Adicionalmente, o estudo *in silico* dos parâmetros farmacocinéticos de ADME destes complexos foram realizados para verificar o perfil farmacológico.

O estudo das superfícies de Hirshfeld revelou que a estrutura supramolecular do complexo **3** é estabilizada por interações H···H, C···H/H···C, N···H/H···N e S···H/H···S. Os gráficos de impressão digital 2D mostraram que as interações N···H/H···N e S···H/H···S são os contatos mais importantes para a estabilidade de rede, com cerca de 23% de contribuição para a área de HS.

As análises de *docking* molecular dos complexos **3** e **4** mostraram valores de ΔG altamente exergônico o que revela boa orientação e afinidade entre os complexos e as estruturas cristalinas das enzimas das bactérias. Os complexos **3** e **4** apresentaram, inclusive, valores de energia de ligação menores quando comparados com o controle positivo CHD, indicando que, teoricamente, apresentariam considerável atividades biológicas. A partir do estudo teórico, foi confirmado também que as mudanças estruturais no grupo periférico do ligante podem afetar substancialmente as interações com o alvo, como mostrado pelos melhores resultados de **4** em relação ao **3**.

Neste trabalho, também foi realizada o estudo *in silico* dos parâmetros farmacocinéticos de ADME de ambos os complexos. Os resultados dos complexos **3** e **4** mostraram um perfil farmacocinético promissor indicando boa biodisponibilidade oral teórica e distribuição adequadas da molécula *in vivo*, porém, não apresentam boa solubilidade teórica. Os compostos também foram avaliados quanto à absorção intestinal humana (HIA), penetração na barreira hematoencefálica (BBB), inibição das isoenzimas pertencentes ao sistema CYP450 e os resultados mostraram que o complexo **3** e os ligantes livres **1** e **2** tiveram maior absorção no intestino do que o **4**. Os parâmetros farmacocinéticos também revelaram que nenhum dos compostos é capaz de atravessar a barreira hematoencefálica e nenhum dos compostos inibe as isoenzimas CYP2D6 e CYP3A4 pertencentes ao sistema CYP450. Por fim, este trabalho incentiva futuros estudos biológicos uma vez que os resultados obtidos neste trabalho sugerem que os compostos apresentam um perfil farmacocinético promissor, visando a aplicação dos compostos como agentes antibacterianos.

REFERÊNCIAS

- AKBARI, A., GHATEAZADEH, H., TAKJOO, R., SADEGHI-NEJAD, B., MEHRVAR, M. and MAGUE, J. Synthesis e crystal structures of four new biochemical active Ni(II) complexes of thiosemicarbazone and isothiosemicarbazone-based ligands: *In vitro* antimicrobial study. **Journal of Molecular Structure**, v. 1181, p. 287-294, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2018.12.109>.
- ALGHAMDI, N. J., BALARAMAN, L., EMHOFF, K. A., SALEM, A. M. H., WEI, R., ZHOU, A. and BOYD, W. C. Cobalt(II) diphenylazodioxide complexes induce apoptosis in SK-HEP-1 cells. **ACS Omega**, v. 4, n. 11, p. 14503-14510, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1021/acsomega.9b01684>.
- ALI, J., CAMILLERI, P., BROWN, M., HUTT, A., KIRTON, S. *In silico* prediction of aqueous solubility using simple QSPR models: the importance of phenol and phenol-like moieties. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 52, n. 11, p. 2950-2957, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1021/ci300447c>.
- ALLOUCHE, A.-R. Gabedit-a graphical user interface for computational chemistry softwares. **Journal of computational chemistry**, v. 32, n. 1, p. 174-182, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1002/jcc.21600>.

- ATASEVER, B., ULKÜSEVEN, B., BAL-DEMIRCI, T., ERDEM-KURUCA, S., SOLAKOĞLU, Z. Cytotoxic activities of new iron(III) and nickel(II) chelates of some *S*-methyl-thiosemicarbazones on K562 and ECV304 cells. **Investigational New Drugs**, v. 28, n. 4, p. 421-432, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10637-009-9272-2>.
- BARBOUR, L. J. (2017). Single-Crystal X-ray Diffraction. Comprehensive Supramolecular Chemistry II. J. L. Atwood. Oxford, Elsevier, pp. 23-43.
- BIOVIA (2017). Discovery Studio Visualizer. San Diego, Dassault Systèmes.
- CHANDRA, S., VANDANA. Synthesis, spectroscopic, anticancer and antibacterial studies of Ni(II) and Cu(II) complexes with 2-carboxybenzaldehyde thiosemicarbazone. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 129, p. 333-338, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.saa.2014.02.141>.
- CHATTERJEE, S. K., ROY, S., BARMAN, S. K., MAJI, R. C., OLMSTEAD, M. M., PATRA, A. K. Shuttling of nickel oxidation states in N₄S₂ coordination geometry versus donor strength of tridentate N₂S donor ligands. **Inorganic Chemistry**, v. 51, n. 14, p. 7625-7635, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1021/ic300606g>.
- CHAUDHARY, K., MISHRA, N. A review on molecular docking: Novel tool for drug discovery. **JSM Chemistry**, v. 4, p. 1-4, 2016.
- DAINA, A., MICHELIN, O., ZOETE, V. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 42717, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep42717>.
- DE LANGE, E. C., DANHOF, M. Considerations in the use of cerebrospinal fluid pharmacokinetics to predict brain target concentrations in the clinical setting: implications of the barriers between blood and brain. **Clinical Pharmacokinetics**, v. 41, n. 10, p. 691-703, 2002. DOI: <https://doi.org/10.2165/00003088-200241100-00001>.
- DEEPTHI, T. V., VENUGOPALAN, P. Synthesis, characterization and biological studies on Ni(II) and Cu(II) complexes of two novel α,β -unsaturated 1,3-diketones related to curcuminoids. **Inorganica Chimica Acta**, v. 450, p. 243-250, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ica.2016.05.045>.

DEO, P. N., DESHMUKH, R. Oral microbiome: Unveiling the fundamentals. **Journal of Oral and Maxillofacial Pathology**, v. 23, n. 1, p. 122-128, 2019. DOI: https://doi.org/10.4103/jomfp.JOMFP_304_18.

DOLIGALSKI, C. T., TONG LOGAN, A., SILVERMAN, A. Drug interactions: a primer for the gastroenterologist. **Gastroenterol Hepatol**, v. 8, n. 6, p. 376-383, 2012.

DOOGUE, M. P., POLASEK, T. M. The ABCD of clinical pharmacokinetics. **Therapeutic Advances in Drug Safety**, v. 4, n. 1, p. 5-7, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1177/2042098612469335>.

EGAN, W. J., MERZ, K. M., JR., BALDWIN, J. J. Prediction of drug absorption using multivariate statistics. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 43, n. 21, p. 3867-3877, 2000. DOI: <https://doi.org/10.1021/jm000292e>.

FERNANDES, L. P., SILVA, J. M. B., MARTINS, D. O. S., SANTIAGO, M. B., MARTINS, C. H. G., JARDIM, A. C. G., OLIVEIRA, G. S., PIVATTO, M., SOUZA, R. A. C., FRANCA, E. F., DEFLON, V. M., MACHADO, A. E. H., OLIVEIRA, C. G. Fragmentation study, dual anti-Bactericidal and anti-Viral effects and molecular docking of Cobalt(III) complexes. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 21, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms21218355>.

GHOSE, A. K., VISWANADHAN, V. N., WENDOLOSKI, J. J. A knowledge-based approach in designing combinatorial or medicinal chemistry libraries for drug discovery. A qualitative and quantitative characterization of known drug databases. **Journal of Combinatorial Chemistry**, v. 1, n. 1, p. 55-68, 1999. DOI: <https://doi.org/10.1021/cc9800071>.

GÖRGÜLÜ, G., CICEK, M. B., DEDE, B. Novel aminoketooxime ligand and its Cu(II) and Mn(II) complexes: synthesis, characterization and molecular docking studies. **Acta Physica Polonica A**, v. 133, p. 250-255, 2018. DOI: <https://doi.org/10.12693/APhysPolA.133.250>.

GUAN, L., YANG, H., CAI, Y., SUN, L., DI, P., LI, W., LIU, G., TANG, Y. ADMET-score - a comprehensive scoring function for evaluation of chemical drug-likeness. **Medicinal Chemistry Communications**, v. 10, n. 1, p. 148-157, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1039/c8md00472b>.

HAY, M., THOMAS, D. W., CRAIGHEAD, J. L., ECONOMIDES, C., ROSENTHAL, J. Clinical development success rates for investigational drugs. **Nature biotechnology**, v. 32, n. 1, p. 40-51, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1038/nbt.2786>.

KAWANO, D. F., PEREIRA, L. R. L., UETA, J. M., FREITAS, O. D. Acidentes com os medicamentos: Como minimizá-los? **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, p. 487-495, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1516-93322006000400003>.

KILIAN, M., CHAPPLE, I. L. C., HANNIG, M., MARSH, P. D., MEURIC, V., PEDERSEN, A. M. L., TONETTI, M. S., WADE, W. G., ZAURA, E. The oral microbiome – an update for oral healthcare professionals. **British Dental Journal**, v. 221, n. 10, p. 657-666, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1038/sj.bdj.2016.865>.

KIRCHMAIR, J., GÖLLER, A. H., LANG, D., KUNZE, J., TESTA, B., WILSON, I. D., GLEN, R. C., SCHNEIDER, G. Predicting drug metabolism: experiment and/or computation? **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 14, n. 6, p. 387-404, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrd4581>.

KOLA, I., LANDIS, J. Can the pharmaceutical industry reduce attrition rates? **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 3, n. 8, p. 711-716, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrd1470>.

KOMIYAMA, E. Y., LEPESQUEUR, L. S. S., YASSUDA, C. G., SAMARANAYAKE, L. P., PARAHITIYAWA, N. B., BALDUCCI, I., KOGA-ITO, C. Y. *Enterococcus* species in the oral cavity: prevalence, virulence factors and antimicrobial susceptibility. **PloS one**, v. 11, n. 9, p. e0163001-e0163001, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0163001>.

LIPINSKI, C. A., LOMBARDO, F., DOMINY, B. W., FEENEY, P. J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 23, n. 1, p. 3-25, 1997. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0169-409X\(96\)00423-1](https://doi.org/10.1016/S0169-409X(96)00423-1).

LOFTSSON, T. (2015). Physicochemical Properties and Pharmacokinetics. Essential Pharmacokinetics, Academic Press, pp. 85-104.

LOPES, E. D. O., OLIVEIRA, C. G. D., SILVA, P. B. D., EISMANN, C. E., SUÁREZ, C. A., MENEGÁRIO, A. A., LEITE, C. Q. F., DEFLON, V. M., PAVAN, F. R. Novel Zinc(II) complexes [Zn(atc-Et)₂] and [Zn(atc-Ph)₂]: *in vitro* and *in vivo* antiproliferative studies.

International Journal of Molecular Sciences, v. 17, n. 5, p. 781, 2016. DOI:

<https://doi.org/10.3390/ijms17050781>.

MAGALHÃES, C. S. D. (2006). Algoritmos genéticos para o problema de Docking proteína-ligante, Tese de Doutorado, Laboratório Nacional de Computação Científica, 220 f.

MAIA, P. I. D. S., PAVAN, F. R., LEITE, C. Q. F., ABRAM, U., LANG, E. S., BATISTA, A. A., DEFLON, V. M. (2011). Thiosemicarbazone complexes of group 10 metals: Preparation, structural analysis and anti-*Mycobacterium tuberculosis* activity. In Pele L., Powell J. J., Kinrade S., Jugdaohsingh R., Collery P., Maynard I., Badawi A. (Eds.), *Metal Ions in Biology and Medicine*. Paris, John Libbey Eurotext, v. 11, pp. 164–171.

MARTIN, Y. C. A bioavailability score. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 48, n. 9, p. 3164-3170, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1021/jm0492002>.

MCKINNON, J. J., SPACKMAN, M. A., MITCHELL, A. S. Novel tools for visualizing and exploring intermolecular interactions in molecular crystals. **Acta Crystallographica B**, v. 60, n. 6, p. 627-668, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1107/s0108768104020300>.

MENDES, C. C. A. (2014). Estudo teórico da seletividade e do solvente em um nanobiossensor de herbicidas inibidores da acetil-coenzima a carboxilase. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Uberlândia, 92 f.

MENG, X.-Y., ZHANG, H.-X., MEZEI, M., CUI, M. Molecular docking: a powerful approach for structure-based drug discovery. **Current Computer-aided Drug Design**, v. 7, n. 2, p. 146-157, 2011. DOI: <https://doi.org/10.2174/157340911795677602>.

MOHARANA, A. K., DASH, R. N., SUBUDHI, B. B. Thiosemicarbazides: Updates on Antivirals Strategy. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 20, n. 20, p. 2135-2152, 2020. DOI: <https://doi.org/10.2174/1389557520666200818212408>.

MORRIS, G. M., HUEY, R., LINDSTROM, W., SANNER, M. F., BELEW, R. K., GOODSELL, D. S., OLSON, A. J. AutoDock4 and AutoDockTools4: automated docking with selective receptor flexibility. **Journal of Computational Chemistry**, v. 30, n. 16, p. 2785-2791, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1002/jcc.21256>.

NETALKAR, P. P., NETALKAR, S. P., REVANKAR, V. K. Nickel(II) complexes of thiosemicarbazones: synthesis, characterization, X-ray crystallographic studies and *in vitro*

antitubercular and antimicrobial studies. **Transition Metal Chemistry**, v. 39, n. 5, p. 519-526, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11243-014-9827-8>.

NISHA, C. M., KUMAR, A., NAIR, P., GUPTA, N., SILAKARI, C., TRIPATHI, T., KUMAR, A. Molecular docking and *in silico* ADMET study reveals acylguanidine 7a as a potential inhibitor of β -secretase. **Advances in Bioinformatics**, v. 2016, p. 9258578, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1155/2016/9258578>.

OLIVEIRA, C. G. (2013). Síntese e caracterização de complexos de metais da primeira série do bloco d com tiossemicarbazonas para investigar seu potencial contra *Mycobacterium tuberculosis*. Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, 133 f.

PAHONȚU, E., PROKS-MABDA, M., SHOVA, S., LUPAȘCU, G., ILIES, D. C., BARBUCEANU, S.-F., SOCEA, L., BADEA, M., PĂUNESCU, V., ISTRATI, D., GULEA, A., DRAGANESCU, D., PÎRVU, C. Synthesis, characterization, molecular docking studies and *in vitro* screening of new metal complexes with Schiff base as antimicrobial and antiproliferative agents. **Applied Organometallic Chemistry**, v. 33, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1002/aoc.5185>.

POLO-CERÓN, D. Cu(II) and Ni(II) complexes with new tridentate NNS thiosemicarbazones: synthesis, characterisation, DNA interaction, and antibacterial activity. **Bioinorganic Chemistry and Applications**, v. 2019, p. 3520837, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1155/2019/3520837>.

RICHARDSON, D. R., SHARPE, P. C., LOVEJOY, D. B., SENARATNE, D., KALINOWSKI, D. S., ISLAM, M., BERNHARDT, P. V. Dipyriddy thiosemicarbazone chelators with potent and selective antitumor activity form iron complexes with redox activity. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 49, n. 22, p. 6510-6521, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1021/jm0606342>.

ROCHA, L. (2015). "Pesquisadora fala sobre a resistência causada pelo uso indiscriminado de antibióticos." Acessado em 20 de fevereiro de 2022. Disponível em <https://portal.fiocruz.br/noticia/pesquisadora-fala-sobre-resistencia-causada-pelo-uso-indiscriminado-de-antibioticos#:~:text=Quais%20s%C3%A3o%20os%20impactos%20desse,de%20tratar%20tende%20a%20aumentar>.

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

SARKER, D., HOSSEN, M., ZAHAN, M. K.-E., HAQUE, M., ZAMIR, R., ASRAF, M. Synthesis, characterization, thermal analysis and antibacterial activity of Cu (II) and Ni(II) complexes with thiosemicarbazone derived from thiophene-2-aldehyde. **Journal of Materials Science Research and Reviews**, v. 5, p. 15-25, 2020.

SERDA, M., KALINOWSKI, D. S., MROZEK-WILCZKIEWICZ, A., MUSIOL, R., SZURKO, A., RATUSZNA, A., PANTARAT, N., KOVACEVIC, Z., MERLOT, A. M., RICHARDSON, D. R., POLANSKI, J. Synthesis and characterization of quinoline-based thiosemicarbazones and correlation of cellular iron-binding efficacy to anti-tumor efficacy. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 22, n. 17, p. 5527-5531, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2012.07.030>.

SINGH, P., VERMA, N., KUMAR, P., NAGU, P. Review on a potential of antibiotics. **Journal of Drug Delivery and Therapeutics**, v. 8, p. 35-40, 2018. DOI: <https://doi.org/10.22270/jddt.v8i5-s.1936>.

SLIWOSKI, G., KOTHIWALE, S., MEILER, J., LOWE, E. W., JR. Computational methods in drug discovery. **Pharmacological Reviews**, v. 66, n. 1, p. 334-395, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1124/pr.112.007336>.

SOUZA, R. A. C., COSTA, W. R. P., DE, F. F. E., BESSA, M. A. S., MENEZES, R. D., MARTINS, C. H. G., MAIA, P. I. S., DEFLON, V. M., OLIVEIRA, C. G. Copper(II) complexes based on thiosemicarbazone ligand: Preparation, crystal structure, Hirshfeld surface, energy framework, anti-Myco bacterium activity, *in silico* and molecular docking studies. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 223, p. 111543, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2021.111543>.

SPACKMAN, M. A., JAYATILAKA, D. Hirshfeld surface analysis. **CrystEngComm**, v. 11, n. 1, p. 19-32, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1039/B818330A>.

STEWART, J. J. P. (2016). "MOPAC2016™." **JSM Chemistry**. Acessado em 01 de janeiro de 2022. Disponível em <http://openmopac.net/MOPAC2016.html>.

TARALLO, M. B., URQUIOLA, C., MONGE, A., COSTA, B. P., RIBEIRO, R. R., COSTA-FILHO, A. J., MERCADER, R. C., PAVAN, F. R., LEITE, C. Q. F., TORRE, M. H., GAMBINO, D. Design of novel iron compounds as potential therapeutic agents against tuberculosis. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 104, n. 11, p. 1164-1170, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2010.07.005>.

THOMSEN, R., CHRISTENSEN, M. H. MolDock: a new technique for high-accuracy molecular docking. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 49, n. 11, p. 3315-3321, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1021/jm051197e>.

VEBER, D. F., JOHNSON, S. R., CHENG, H.-Y., SMITH, B. R., WARD, K. W., KOPPLE, K. D. Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, n. 12, p. 2615-2623, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1021/jm020017n>.

VENTOLA, C. L. The antibiotic resistance crisis: part 1: causes and threats. **Pharmacy and Therapeutics**, v. 40 n. 4, p. 277-283, 2015.

VITORINO, H. A., MANTOVANELLI, L., ZANOTTO, F. P., ESPÓSITO, B. P. Iron metallodrugs: stability, redox activity, toxicity against *Artemia salina*. **PloS one**, v. 10, n. 4, p. e0121997, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0121997>.

VRBANAC, J., SLAUTER, R. (2017). Chapter 3 - ADME in Drug Discovery. A Comprehensive Guide to Toxicology in Nonclinical Drug Development (Second Edition). A. S. Faqi. Boston, Academic Press: 39-67.

WEST, D. X., GALLOWAY, D. S., CASE, D. A. Transition metal ion complexes of thiosemicarbazones derived from 2-acetylpyridine. Part 4. The 3-piperidinyl derivative. **Transition Metal Chemistry**, v. 13, n. , p. 415-419, 1988.

WILLETT, R. D., GÓMEZ-GARCÍA, C. J., TWAMLEY, B., GÓMEZ-COCA, S., RUIZ, E. Exchange coupling mediated by N-H...Cl hydrogen bonds: experimental and theoretical study of the frustrated magnetic system in bis(o-phenylenediamine)nickel(II) chloride. **Inorganic Chemistry**, v. 51, n. 9, p. 5487-5493, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1021/ic3007124>.

WOLFF, S. K., GRIMWOOD, D. J., MCKINNON, J. J., JAYATILAKA, D., SPACKMAN, M. A. (2007). "Crystal Explorer 2.1."

ZAMAN, S. B., HUSSAIN, M. A., NYE, R., MEHTA, V., MAMUN, K. T., HOSSAIN, N. A review on antibiotic resistance: alarm bells are ringing. **Cureus**, v. 9, n. 6, p. e1403, 2017. DOI: <https://doi.org/10.7759/cureus.1403>.

ZANGER, U. M., SCHWAB, M. Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism: regulation of gene expression, enzyme activities, and impact of genetic variation. **Pharmacology &**

Therapeutics, v. 138, n. 1, p. 103-141, 2013. DOI:
<https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2012.12.007>.