



ISSN: 2230-9926

Available online at <http://www.journalijdr.com>

# IJDR

International Journal of Development Research

Vol. 11, Issue, 10, pp. 50904-50909, October, 2021

<https://doi.org/10.37118/ijdr.23137.10.2021>



RESEARCH ARTICLE

OPEN ACCESS

## PROPRIEDADES FARMACOCINÉTICAS E FARMACOLOGIA IN SILICO DE CAFEATOS MONOTERPÊNICOS IDEALIZADOS

Mayara Fernanda Strada, Bruno Pereira Gabriel, Rafaelle Bonzanini Romero and  
\*Adriano Lopes Romero

Departamento Acadêmico de Química, Universidade Tecnológica Federal do Paraná - câmpus Campo Mourão

### ARTICLE INFO

#### Article History:

Received 10<sup>th</sup> August, 2021  
Received in revised form  
06<sup>th</sup> September, 2021  
Accepted 11<sup>th</sup> October, 2021  
Published online 30<sup>th</sup> October, 2021

#### Key Words:

17-beta-Desidrogenase 2,  
Câncer de Mama, Ácido Cafeico.

#### \*Corresponding author:

Adriano Lopes Romero

### ABSTRACT

O ácido cafeico é um composto natural pertencente à classe dos fenilpropanóides que possui diferentes propriedades farmacológicas. Nosso grupo de pesquisa, visando potencializar os efeitos do ácido cafeico, tem utilizado a técnica de hibridação molecular do ácido cafeico com outros compostos naturais, tais como, os álcoois monoterpênicos. Assim, 10 híbridos foram idealizados e avaliados *in silico*, visando reduzir custos e tempo. A partir do uso de algumas ferramentas computacionais analisou-se os potenciais alvos de inibição dos híbridos e verificou-se suas propriedades farmacocinéticas, além disso, por meio da ancoragem molecular foi possível analisar a interação desses compostos com o sítio ativo da enzima. Neste contexto, o objetivo desse trabalho foi a predição de possíveis candidatos a fármacos. De acordo com os resultados obtidos, dois cafeatos alcoólicos (cafeatos derivados do mirtenol e do citronelol) apresentaram como potencial alvo de inibição a enzima 17-beta-desidrogenase 2 mediante ancoragem molecular em seu sítio ativo e propriedades farmacocinéticas condizentes para candidatos a fármacos. A enzima 17-beta-desidrogenase 2, atua na conversão da estrona em estradiol, e é responsável pelo crescimento de tumores na mama, assim, sua inibição é alvo de pesquisa e desenvolvimento (P&D) de novos agentes antineoplásicos que atuarão no tratamento do câncer de mama.

Copyright © 2021, Mayara Fernanda Strada et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Citation: Mayara Fernanda Strada, Bruno Pereira Gabriel, Rafaelle Bonzanini Romero and Adriano Lopes Romero. "Propriedades farmacocinéticas e farmacologia in silico de cafeatos monoterpênicos idealizados", *International Journal of Development Research*, 11, (10), 50904-50909.

## INTRODUCTION

De acordo com as estatísticas do Instituto Nacional de Câncer os tipos de câncer mais incidentes na população são o de pulmão seguido pelo de mama (Inca, 2018). O câncer de mama é o câncer mais comumente diagnosticado em mulheres e é responsável por uma considerável taxa de mortalidade (Silva & Riul, 2011). As neoplasias podem ser ocasionadas por diversos fatores, seja por disposição genética, hábitos ruins associados à alimentação ou ao fumo, ou ao natural processo de envelhecimento (Oliveira et al., 2015). Os agentes utilizados no tratamento do câncer são denominados antineoplásicos e consistem em fármacos dirigidos a supressão de células tumorais. A quimioterapia é uma técnica que consiste na combinação de fármacos e está associada ao tratamento da neoplasia, entretanto devido a sua não seletividade, esses quimioterápicos causam efeitos colaterais adversos (Korokolvas & Burckhalter, 1982). Dessa forma, novas pesquisas são estimuladas para o desenvolvimento de fármacos antineoplásicos que possuam menores efeitos colaterais. O ácido cafeico, um fenilpropanóide de ocorrência de natural, é um potencial alvo de estudos devido à suas propriedades bioativas, tais como anticancerígena (Kang et al., 2009),

anti-inflamatória (Chen et al., 1995), antimutagênica (Yamada et al., 1996) e antibacteriana (Ani, Varadaraj & Akhilender-Naidu, 2006). Nosso grupo de pesquisa vem utilizando a técnica da hibridação molecular (Barreiro & Fraga, 2015) do ácido cafeico com outros produtos naturais, visando potencializar os efeitos do ácido cafeico. A utilização desses híbridos no contexto da farmacologia depende, principalmente, de suas propriedades farmacocinéticas, tais como absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade, conhecidos como parâmetros ADMET (Kovačević et al., 2014). Os métodos tradicionais de pesquisa e desenvolvimento (P&D) de fármacos demandam tempo e seus custos são bastante elevados. A indústria farmacêutica leva de 8 a 15 anos para que um novo fármaco seja produzido, desde seu planejamento até sua síntese, ademais esse processo pode custar em torno de US\$ 1,8 bilhões de dólares (Ortega, Cara & Salvador, 2012). Nesse contexto, desenvolveu-se a farmacologia *in silico* (também conhecida como terapêutica computacional ou farmacologia computacional), uma área de rápido crescimento que abrange globalmente o desenvolvimento de técnicas para o uso de software para capturar, analisar e integrar dados biológicos e médicos de diversas fontes.

Mais especificamente, define o uso dessas informações na criação de modelos ou simulações computacionais que podem ser usadas para fazer previsões, sugerir hipóteses e, finalmente, fornecer descobertas ou avanços na medicina e terapêutica (Ekins *et al.*, 2007). Tais estudos requerem menos tempo que os métodos convencionais utilizados na P&D de fármacos, e apresenta custos consideravelmente mais baixos, visto que essas simulações computacionais realizam uma triagem dos compostos antes de sintetizá-los (Ekins *et al.*, 2007; Muhammad *et al.*, 2020). Entre as enzimas de interesse no desenvolvimento de tumores destaca-se a enzima 17-beta-desidrogenase 2, que é responsável pelo crescimento de diversos tecidos, inclusive, pelo crescimento de tumores na mama (Faria, 2014; Hilborn, Stål&Jansson, 2017). Nessa perspectiva, a inibição dessa enzima é um importante alvo para a P&D de novos fármacos para serem utilizados no tratamento do câncer de mama. No contexto apresentado, o objetivo deste trabalho foi avaliar, *in silico*, as propriedades farmacológicas de dez cafeatos monoterpênicos (12-21), híbridos do ácido cafeico (1) e álcoois monoterpênicos (2-11), frente a enzima 17-beta-desidrogenase 2, visando a pesquisa e desenvolvimento de novos agentes antineoplásicos mais eficazes e com menores efeitos colaterais.

## METODOLOGIA

Os cafeatos monoterpênicos idealizados (12-21) são produtos da reação de esterificação estabelecida entre o ácido cafeico (1) e álcoois monoterpênicos, sendo eles: (+) linalol (2), mentol (3), mirtenol (4), álcool perílico (5), verbenol (6), cicloexanol (7), carveol (8), citronelol (9), geraniol (10) e (-) linalol (11) (Figura 1). Para a realização dos estudos *in silico* foram utilizadas seis ferramentas computacionais:

**Chem Sketch:** utilizada para desenho estrutural, gerar códigos *smiles*, e determinar a estrutura tridimensional dos compostos.

**Molinspiration (<https://www.molinspiration.com/>):** utilizada para avaliar propriedades moleculares associadas à biodisponibilidade oral, cuja probabilidade de ocorrência é indicada pela regra dos cinco de Lipinski a partir da avaliação de cinco parâmetros: a) Coeficiente de partição octanol-água (LogP) que deve ser menor ou igual a 5; b) Massa molar (MM) que deve ser menor ou igual a 500 g/mol; c) Área de superfície topológica polar (TPSA) que deve ser menor ou igual a 140 Å<sup>2</sup>; d) Número de grupos receptores de ligação de hidrogênio (nALH) que deve ser menor ou igual a 10; e) Número de grupos doadores de ligação de hidrogênio (nDLH) que deve ser menor ou igual a 5 (Lipinski *et al.*, 2001). Além disso, avaliou-se a potencialidade das substâncias 1-21 atuarem como ligante GPCR, modulador de canal iônico, inibidor de quinase, ligante de receptor nuclear, inibidor de protease e inibidor de enzima. O método utilizado para calcular a potencialidade de uma substância possuir umas das bioatividades mencionadas usa estatísticas Bayesianas sofisticadas para comparar estruturas de ligantes ativos no alvo em particular com estruturas de moléculas inativas e identificar características da subestrutura (que por sua vez determinam propriedades físico-químicas) típicas de moléculas ativas (Rathgeber, Züchner& Burchardi, 1996).

**admetSAR 2.0 (<http://lmmd.ecust.edu.cn/admetSAR2/>):** Foi usada para prever parâmetros farmacocinéticos relacionados à absorção, distribuição, metabolismo e toxicidade (Yang *et al.*, 2018).

**Swiss Target Prediction (<http://www.swisstargetprediction.ch/>):** utilizada para prever os possíveis alvos farmacológicos dos compostos avaliados. Trata-se de uma ferramenta *online*, de acesso livre, para prever alvos de moléculas bioativas com base em uma combinação de similaridade 2D e 3D com ligantes conhecidos. As previsões podem ser realizadas em cinco organismos diferentes (*Homo sapiens*, *Mus musculus*, *Rattus norvegicus*, *Bos taurus*, e *Equus caballus*), totalizando mais de 12 mil alvos possíveis, cerca de 2,5 mil provenientes da espécie *Homo sapiens* (Gfeller *et al.*, 2014).

**iGEMDOCK:** utilizada para realizar o estudo de ancoragem molecular frente a enzima 17-beta-desidrogenase 2 (PDB: 1A27), alvo apontado pela ferramenta Swiss Target Prediction, disponível no banco de dados Protein Data Bank. Trata-se de uma ferramenta de acesso livre que permite estudar as interações farmacológicas, que são úteis para entender os mecanismos de ligação de ligantes a um alvo terapêutico. Segundo estudos realizados pelos desenvolvedores da ferramenta, a taxa de sucesso do iGEMDOCK é de 78% considerando uma amostra de 305 complexos de proteínas e seus respectivos ligantes cristalográficos retirados do banco de dados Protein Data Bank (Yang & Chen, 2004, Yang *et al.*, 2018).

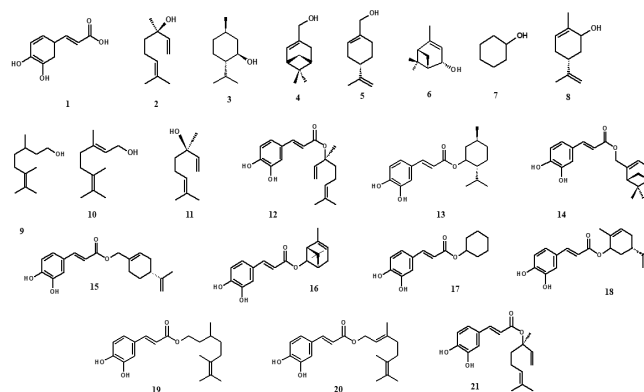


Figura 1. Estrutura molecular do ácido cafeico, dos álcoois monoterpênicos e dos cafeatos monoterpênicos

**UCSF Chimera 1.10.1:** utilizada para avaliar visualmente as interações enzima-ligantes resultantes de estudos de ancoragem molecular (Pettersen *et al.*, 2004).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

**Propriedades moleculares e predição de bioatividades:** As propriedades moleculares do ácido cafeico, dos álcoois monoterpênicos e dos híbridos idealizados foram calculadas na ferramenta Molinspiration (Tabela 1). Lipinski *et al.* (2001) concluíram que a análise de propriedades moleculares é imprescindível para avaliar a biodisponibilidade oral de candidatos a fármaco, visto que esses parâmetros estão associados à permeabilidade dos compostos em membrana celular. A partir da análise dos dados apresentados na Tabela 1 observa-se que não houve nenhuma violação à regra dos cinco de Lipinski *et al.* (2001). Desse modo, espera-se que os compostos avaliados apresentem boa biodisponibilidade oral, uma vez que possuem propriedades moleculares condizentes com fármacos de administração oral. Em relação aos dados obtidos na ferramenta Molinspiration, considera-se que a atividade biológica é medida pelo escore de bioatividade, categorizado em três faixas diferentes: (i) se o escore de bioatividade for maior que 0,00, a substância avaliada possui atividade biológica considerável; (ii) se o escore de bioatividade for de -0,5 a 0,00, a substância avaliada possui atividade moderada; (iii) se o escore de bioatividade for menor que -0,50, a substância avaliada é inativa (Verma, 2012). Os resultados de predição de bioatividades para os compostos 1-21 são apresentados na Tabela 2. Foram destacados, em vermelho, os escores positivos, relacionados a predição positiva da bioatividade avaliada.

A partir dos escores apresentados na Tabela 2 observa-se que dois modelos de bioatividades, ligante de receptor nuclear e inibidor de enzima (destacados em vermelho), apresentaram resultados promissores para os cafeatos monoterpênicos. Vale destacar que os receptores nucleares são expressos em numerosos tipos de células estromais e parenquimatosas, cujos papéis fisiológicos sugerem potencial terapêutico no contexto do microambiente reativo do tumor (Riggins *et al.*, 2010). Segundo Sherman, Downes e Evans (2012) há evidências de que a inflamação, angiogênese e fibrose associadas ao tumor podem ser moduladas no nível transcricional pelos receptores nucleares e seus ligantes.

**Tabela 1. Propriedades moleculares, determinadas na ferramenta Molinspiration, dos compostos 1-21**

Composto	miLogP	TPSA	MM	nALH	nDLH	Violações
1	-0,02	77,75	182,18	4	3	0
2	2,70	20,23	152,24	1	1	0
3	3,46	20,23	170,30	1	1	0
4	3,51	20,23	168,28	1	1	0
5	3,21	20,23	154,25	1	1	0
6	3,21	20,23	154,25	1	1	0
7	3,33	20,23	156,27	1	1	0
8	1,38	20,23	150,22	1	1	0
9	2,37	20,23	152,24	1	1	0
10	0,81	20,23	120,15	1	1	0
11	1,59	20,23	100,16	1	1	0
12	4,13	66,76	318,41	4	2	0
13	4,25	66,76	320,43	4	2	0
14	2,34	66,76	300,35	4	2	0
15	3,29	66,76	316,40	4	2	0
16	2,22	66,76	284,31	4	2	0
17	2,50	66,76	264,32	4	2	0
18	3,62	66,76	316,40	4	2	0
19	4,38	66,76	334,46	4	2	0
20	4,43	66,76	332,44	4	2	0
21	4,13	66,76	318,41	4	2	0

**Tabela 2. Predição de bioatividades, determinadas na ferramenta Molinspiration, para os compostos 1-21**

Composto	Ligante GPCR	Modulador de canal iônico	Inibidor de quinase	Ligante de receptor nuclear	Inibidor de protease	Inibidor de enzima
1	-0,58	-0,14	-1,31	-0,60	-0,72	-0,10
2	-0,55	0,14	-1,40	0,25	-0,89	0,23
3	-0,96	-0,34	-1,06	-0,50	-0,92	-0,26
4	-0,78	-0,07	-1,19	-0,20	-1,10	0,07
5	-0,73	0,07	-1,26	-0,06	-0,94	0,07
6	-0,73	0,07	-1,26	-0,06	-0,94	0,07
7	-0,76	-0,30	-1,36	-0,60	-0,67	-0,22
8	-0,62	-0,13	-0,79	-0,46	-0,75	-0,15
9	-0,61	0,04	-1,31	0,03	-0,93	0,14
10	-1,72	-1,17	-2,09	-2,08	-1,95	-1,36
11	-3,19	-2,94	-3,50	-3,06	-3,08	-2,79
12	-0,03	0,07	-0,55	0,26	-0,01	0,38
13	-0,09	-0,12	-0,60	0,04	0	0,11
14	-0,12	-0,02	-0,50	0,06	-0,01	0,14
15	-0,05	0,17	-0,64	0,41	-0,01	0,25
16	-0,10	-0,04	-0,51	0	-0,09	0,10
17	-0,13	0,02	-0,64	-0,12	-0,12	0,18
18	0,09	0,16	-0,54	0,46	-0,03	0,42
19	-0,19	-0,13	-0,52	0,09	-0,08	0,07
20	-0,17	-0,06	-0,60	0,18	-0,22	0,15
21	-0,03	0,07	-0,55	0,26	-0,01	0,38

**Tabela 3. Propriedades farmacocinéticas, determinadas na ferramenta admetSAR, dos compostos 1-21**

Composto	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
Caco-2	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-
Barreira hematoencefálica	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Inibidor da P-gp	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Substrato de P-gp	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Substrato CYP3A4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Substrato CYP2C9	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Substrato CYP2D6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Inibição do CYP3A4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Inibição do CYP2C9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Inibição do CYP2C19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Inibição do CYP2D6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Inibição do CYP1A2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Carcinogenicidade	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mutagênese Ames	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Toxicidade oral aguda	IV	III	III	III	III	III	III	III	III	III	III	III	III	III	III	III	IV	III	III	III	III

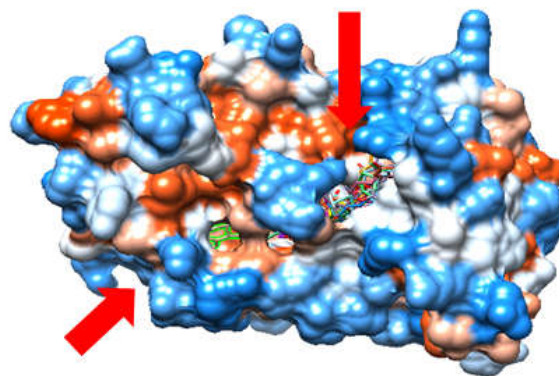
Como esses processos têm sido amplamente implicados na iniciação, progressão e resistência ao câncer, os ligantes de receptores nucleares direcionados ao microambiente do tumor podem ser agentes antitumorais potentes em combinação com quimioterapia (Sherman, Downes & Evans, 2012). Inibidores de enzimas são substâncias que se ligam à enzima com a consequente perda de atividade, sem danificar a estrutura proteica da enzima. Os inibidores exercem seu efeito diminuindo a afinidade da enzima pelo substrato, diminuindo a quantidade de enzima ativa disponível para a catálise ou por uma combinação desses efeitos. Diferentes categorias de inibidores são conhecidas: (i) Inibidores irreversíveis - são compostos que se ligam covalentemente a grupos específicos na superfície da proteína, impedindo a ligação e a catálise da reação; (ii) Inibidores competitivos - são compostos, geralmente, semelhantes estruturalmente ao substrato e podem, assim, competir com o substrato pelo sítio ativo da enzima; (iii) Inibidores não competitivos - são substâncias que geralmente são estruturalmente não relacionadas ao substrato, se ligam reversivelmente a grupos distantes do sítio ativo da enzima e são, portanto, menos específicas que os inibidores competitivos (Roberts & Gibb, 2013). Entre as três categorias mencionadas, o iGEMDOCK, ferramenta que foi utilizada para realização de estudos de ancoragem molecular, permite avaliar apenas a segunda categoria, na qual a inibição enzimática se dá a partir da interação da molécula avaliada com o sítio ativo da enzima. A partir dos resultados obtidos na ferramenta Swiss Target Prediction, observa-se que a maioria dos híbridos idealizados (12, 13, 14, 17 e 21) resultaram para a inibição da enzima 17-beta-desidrogenase 2. Essa enzima atua na conversão da estrona em estradiol, que é o hormônio mais importante para o metabolismo feminino, pois é responsável pelo crescimento de diversos tecidos, inclusive, pelo crescimento de tumores na mama (Faria, 2014). Observa-se que existe uma convergência dos resultados obtidos nas ferramentas Molinspiration e Swiss Target Prediction indicando dois alvos associados ao câncer de mama, o receptor nuclear e a enzima 17-beta-desidrogenase 2. O envolvimento de receptores nucleares na patogênese do câncer de mama tem sido amplamente reportado na literatura, o que faz com que esses receptores tenham utilidade prognóstica e sejam alvos terapêuticos no contexto do câncer de mama (Kittler *et al.*, 2013; Riggins *et al.*, 2010). Os resultados obtidos nas ferramentas Molinspiration e Swiss Target Prediction indicam que alguns dos cafeatos monoterpênicos possuem potencial para atuarem como fármacos para o tratamento do câncer de mama. Nesse sentido, se as propriedades ADMET (absorção, distribuição, metabolismo e toxicidade) desses compostos forem adequadas, e se os compostos ancorarem no sítio ativo da enzima, os mesmos possuirão potencial de inibição da enzima 17-beta-desidrogenase 2, ou seja, serão promissores candidatos a fármacos com bioatividade anticancerígena, mais especificamente, para o tratamento do câncer de mama.

**Propriedades ADMET:** As propriedades farmacocinéticas dos compostos 1-21 foram avaliadas utilizando a ferramenta admetSAR 2.0 (Tabela 3). A partir da análise dos resultados apresentados na Tabela 3, observa-se que o ácido cafeico não permeia células intestinais do tipo Caco-2, enquanto nove dos dez álcoois monoterpênicos permeiam. Em relação aos cafeatos monoterpênicos, apenas os compostos 13, 19 e 20 apresentaram resultados positivos para esse parâmetro. Desse modo, ainda que a maioria dos cafeatos monoterpênicos apresentaram resultados negativos quanto à absorção intestinal, estudos adicionais serão necessários para verificar se algum problema de absorção será observado para esses híbridos. Ademais, os compostos podem ser absorvidos pelo estômago ou ainda, podem ser administrados por outra via, tal como a intravenosa, que coloca o fármaco diretamente na corrente sanguínea para posteriormente ser distribuído. Observou-se que todos os compostos avaliados apresentaram resultados negativos para o parâmetro de inibição e substrato da glicoproteína-P (P-gp), proteína presente na membrana celular, responsável por expulsar substâncias tóxicas e xenobióticas para o exterior da célula. A glicoproteína P é uma das principais proteínas transportadoras e está envolvida em muitos processos essenciais, como transporte de lipídios e esteroides através das membranas celulares, mas também na captação de medicamentos

como inibidores da HIV protease e da transcriptase reversa (Wang *et al.*, 2011). Dessa forma, caso algum composto apresentasse resultado positivo para ser substrato da glicoproteína-P, ele seria expulso pela mesma, o que comprometeria sua bioatividade.

Em relação ao parâmetro de toxicidade oral aguda, calculado a partir do algoritmo desenvolvido por Zhu *et al.* (2009), observou-se que os compostos avaliados apresentaram resultados entre as categorias III ( $500 \text{ mg/kg} < LD_{50} \leq 5000 \text{ mg/kg}$ ) e IV ( $LD_{50} > 5000 \text{ mg/kg}$ ), ou seja, apresentaram baixa toxicidade. Observou-se que a maioria dos compostos avaliados, exceto o composto **10**, não inibem as isoformas do citocromo CYP 450, que no contexto do presente estudo é vantajoso visto que elas atuam na metabolização de substâncias xenobióticas. Muitos dos efeitos colaterais adversos das interações medicamentosas ocorrem devido a inibição do citocromo CYP 450, o que torna esse parâmetro um importante modelo a ser avaliado durante a fase de pesquisa e desenvolvimento de novos fármacos. A ferramenta admetSAR realiza cálculos para as cinco principais isoformas do CYP, a saber 1A2, 2C9, 2C19, 2D6 e 3A4 (Cheng *et al.*, 2011). A toxicologia de fármacos é uma das áreas cruciais da pesquisa pré-clínica. A avaliação da toxicidade é uma das principais causas de desgaste em todas as etapas do desenvolvimento de fármaco, o que justifica a realização de estudos *in silico* de candidatos a fármacos utilizando os vários modelos de toxicidade disponíveis em diferentes ferramentas computacionais. Como bem reportado na literatura, o efeito mutagênico tem uma estreita relação com a carcinogenicidade (Xu *et al.*, 2012). Em relação à mutagenicidade e carcinogenicidade, observou-se que os compostos avaliados apresentaram resultados negativos para o modelo de mutagenicidade, e apenas o composto **8** apresentou resultado positivo para o modelo de carcinogenicidade. Conclui-se, dessa forma, considerando todos os modelos de toxicidade, que os cafeatos monoterpênicos possuem baixa ou nula toxicidade.

**Estudo de ancoragem molecular frente à enzima 17-beta-desidrogenase 2:** O estudo de ancoragem molecular foi realizado utilizando a ferramenta iGEMDOCK e os resultados obtidos para a interação enzima-ligante foram analisados na ferramenta UCSF Chimera. A partir da análise das interações enzima-ligantes, por meio da ferramenta Chimera, pode-se observar que a enzima possui duas fendas (de tamanhos diferentes), que permitem a entrada de compostos para o interior da enzima, formando um canal dentro da mesma (Figura 2).



**Figura 2. Representação das fendas de entrada da enzima 17-beta-desidrogenase 2**

O sítio ativo da enzima 17-beta-desidrogenase 2 (PDB: 1A27) localiza-se próximo a fenda menor e é envolto pelos seguintes resíduos de aminoácidos: Tyr155, Ser142, Val225, Val143, Leu149 (Breton *et al.*, 1996). Na Figura 3(a) é representado o ligante natural ancorado no sítio ativo da enzima, e a Figura 3(b) representa todos os compostos avaliados ancorados na enzima. Pode-se observar que todos os compostos avaliados encontram-se ancorados no canal que está localizado o sítio ativo, mas a maioria desses está próxima a fenda maior, que está mais distante do sítio ativo, logo tais interações podem não resultar em inibição enzimática. No entanto, observa-se que esses compostos formam um bloqueio no canal de acesso ao sítio ativo por essa fenda (Figura 4).

Tabela 4. Energias de interação enzima-ligante, em kcal.mol<sup>-1</sup>, obtidas do estudo de ancoragem molecular.

Compostos	Energia	van der Waals	Ligação de Hidrogênio	Eletros-tática
1	-86,73	-53,66	-31,98	-1,09
2	-65,23	-50,59	-14,64	0,00
3	-70,59	-55,60	-14,99	0,00
4	-71,47	-56,23	-15,25	0,00
5	-70,21	-57,32	-12,89	0,00
6	-66,85	-52,87	-13,98	0,00
7	-63,50	-50,83	-12,67	0,00
8	-63,12	-46,90	-16,22	0,00
9	-66,72	-49,80	-16,22	0,00
10	-56,88	-46,04	-10,84	0,00
11	-50,85	-35,80	-15,05	0,00
12	-108,49	-91,49	-16,99	0,00
13	-105,56	-92,46	-13,10	0,00
14	-98,61	-86,08	-12,53	0,00
15	-106,76	-87,28	-19,48	0,00
16	-113,48	-90,28	-23,20	0,00
17	-99,43	-77,78	-21,65	0,00
18	-111,79	-88,64	-23,15	0,00
19	-100,91	-89,13	-11,79	0,00
20	-113,21	-97,01	-16,20	0,00
21	-93,49	-83,03	-10,45	0,00

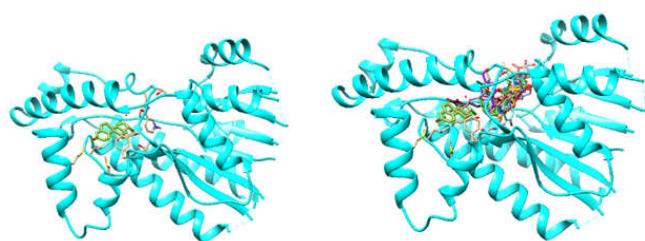


Figura 3. (a) Enzima 17-beta-desidrogenase 2 e seu ligante natural; e (b) Representação dos compostos 1-21 ancorados na enzima 17-beta-desidrogenase 2

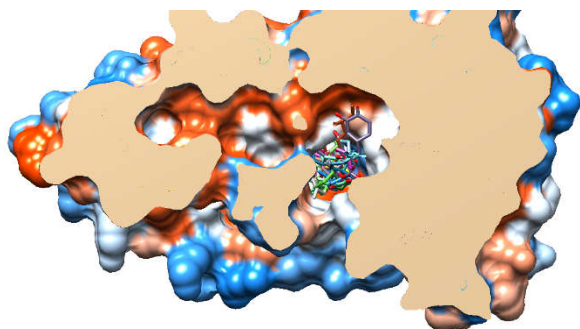


Figura 4. Bloqueio de uma das fendas de entradaenzima 17-beta-desidrogenase 2.

Caso o estradiol entre por esta fenda, esses compostos podem então ter potencial para inibir a ação da enzima. Entretanto, são necessários estudos adicionais acerca do mecanismo de ação dessa enzima, pois não há registros na literatura da entrada do ligante natural por uma fenda alternativa. A partir dos resultados de ancoragem molecular observou-se que os compostos 14 e 19 ancoraram-se próximo ao sítio ativo da enzima, interagindo com o resíduo de aminoácido Tyr 155 (Figura 5).

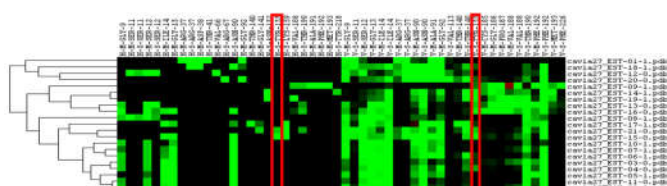


Figura 5. Agrupamento hierárquico das interações dos compostos com os resíduos de aminoácidos da enzima 17-beta-desidrogenase 2

O dendograma representa a interação dos compostos com os resíduos de aminoácidos em ordem hierárquica, logo, dos compostos que apresentaram maior interação para os de menor interação (Figura 5). Assim, pode-se verificar que os compostos 19 e 14 interagem com resíduos de aminoácidos presentes no sítio da ativo da enzima de interesse. Como já apontado anteriormente, os demais compostos apresentam interações que ocorrem afastadas do sítio ativo da enzima (Figura 3 e 5). Os cafeatos monoterpênicos apresentaram energia de interação com a enzima 17-beta-desidrogenase 2 maior que a dos álcoois monoterpênicos e que do ácido cafeico (Tabela 4). Assim como esperado, a hibridação molecular resultou em um aumento da interação enzima-ligante, uma vez que há um aumento no número de interações intermoleculares. Os compostos que se ancoraram no sítio ativo (14 e 19) apresentaram energia de interação de -98,61 e -100,91 kcal.mol<sup>-1</sup>, respectivamente.

## CONCLUSÃO

Os híbridos formados por ácido cafeico e os álcoois monoterpênicos mirtenol e citrionelol (compostos 14 e 19) apresentaram propriedades moleculares, farmacocinéticas e farmacológicas condizentes para candidatos a fármacos. Tais resultados indicam a potencialidade de investir em testes *in vitro* ou *in vivo* para continuação da pesquisa e desenvolvimento de novos fármacos. Os cafeatos monoterpênicos apontaram para a inibição da enzima 17-beta-desidrogenase 2, enzima responsável pelo crescimento de tumores na mama. De acordo com os estudos *in silico* os compostos 14 e 19 interagem com o resíduo de aminoácido Tyr 155 presente no sítio ativo da enzima e bloqueiam uma das fendas que levam ao canal de acesso ao sítio ativo da enzima. Dessa forma, esses dois híbridos possuem potencial atividade para inibir a enzima 17-beta-desidrogenase 2, e atuar no tratamento do câncer de mama. Os demais compostos bloquearam um dos lados da fenda da enzima e, portanto, podem inibir, ainda que parcialmente, o ligante natural (estradiol), e atuar como fármacos no tratamento do câncer de mama. Entretanto, são necessários estudos complementares para avaliar se o bloqueio de um dos lados da fenda é suficiente para diminuir a ação da enzima em relação ao ligante estradiol.

## REFERÊNCIAS

- Ani, V., Varadaraj, M. C., & Akhilender-Naidu, K. 2006. Antioxidant and antibacterial activities of polyphenolic compounds from bitter cumin *Cuminum nigrum* L.. European Food Research and Technology, 2241, 109-115. <https://doi.org/10.1007/s00217-006-0295-z>.

- Barreiro, E. J., & Fraga, C. A. M. 2015. Química medicinal: as bases moleculares da ação dos fármacos 3a ed. Porto Alegre: Artmed.
- Breton, R., Housset, D., Mazza, C., & Fontecilla-Camps, J. C. 1996. The structure of a complex of human 17 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase with estradiol and NADP<sup>+</sup> identifies two principal targets for the design of inhibitors. *Structure*, 48, 905-915. <https://doi.org/10.1016/s0969-21269600098-6>.
- Chen, Y. F., Tsai, H. Y., & Wu, T. S. 1995. Anti-inflammatory and analgesic activities from roots of *Angelica pubescens*. *Planta Medica*, 61(1), 2-8. <https://doi.org/10.1055/s-2006-957987>.
- Cheng, F., Yu, Y., Shen, J., Yang, L., Li, W., Liu, G., Lee, P. W., & Yun Tang. 2011. Classification of cytochrome P450 inhibitors and noninhibitors using combined classifiers. *J. Chem. Inf. Model.*, 51(5), 996-1011. <https://doi.org/10.1021/ci200028n>
- Ekins, S., Mestres, J., & Testa, B. 2007. In silico pharmacology for drug discovery: applications to targets and beyond. *British Journal of Pharmacology*, 152(1), 21-37. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0707306>.
- Inca, 2018. Incidência de Câncer no Brasil. Recuperado de <http://www1.inca.gov.br/estimativa/2018/introducao.asp>.
- Faria, D. A. G. Inibidores da 17 $\beta$ -Hidroxiesteróide Desidrogenase e Terapia do Câncer de Mama, 2004, 32f. Monografia Mestrado em Ciências Farmacêuticas Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, Coimbra, 2014.
- Gfeller, D., Grosdidier, A., Wirth, M., Daina, A., Michielin, O., & Zoete, V. 2014. SwissTargetPrediction: a web server for target prediction of bioactive small molecules. *Nucleic Acids Research*, 42, W32-W38. <https://doi:10.1093/nar/gku293>
- Hilborn, E., Stål, O., & Jansson, A. 2017. Estrogen and androgen-converting enzymes 17 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase and their involvement in cancer: with a special focus on 17 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type 1, 2, and breast cancer. *Oncotarget*, 8(18), 30552-30562. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.15547>.
- Kang, N. J., Lee, K. W., Shin, B. J., Jung, S. K., Hwang, M. K., Bode, A. M., Heo, Y.-S., Lee, H. J., & Dong, Z. 2009. Caffeic acid, a phenolic phytochemical in coffee, directly inhibits fyn kinase activity and UVB-induced COX-2 expression. *Carcinogenesis*, 30(2), 321-30. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgn282>.
- Kittler, R., Zhou, J., Hua, S., Ma, L., Liu, Y., Pendleton, E., Cheng, C., Gerstein, M., & White, K. P. 2013. A comprehensive nuclear receptor network for breast cancer cells. *Cell Reports*, 3(2), 538-551. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2013.01.004>.
- Korokolvas, A., & Burckhalter, J. H. 1982. Química Farmacêutica. São Paulo: Guanabara Koogan.
- Kovačević, S. Z., Jevrić, L. R., Kuzmanović, S. O. P., & Lončar, E. S. 2014. Prediction of in-silico ADME properties of 1,2-O-isopropylidene aldohexose derivatives. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 13(3), 899-907.
- Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy, B. W., & Feeney, P. J. 2001. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 46(1-3), 3-26. <https://doi.org/10.1016/S0169-409X9600423-1>.
- Muhammad, A., Katsayal, B.S., Forcados, G.E., et al. 2020. In silico predictions on the possible mechanism of action of selected bioactive compounds against breast cancer. In *Silico Pharmacology*, 81, 1-13. <https://doi.org/10.1007/s40203-020-00057-8>.
- Oliveira, M. M., Malta, D. C., Guauche, H., Moura, L., & Silva, G. A. E. 2015. Estimativa de pessoas com diagnóstico de câncer no Brasil: dados da Pesquisa Nacional de Saúde. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, 18(suppl 2), 146-157. <https://doi.org/10.1590/1980497201500060013>.
- Ortega, S. S., Cara, L. C. L., & Salvador, M. K. 2012. In silico pharmacology for a multidisciplinary drug discovery process. *Drug Metabolism and Drug Interactions*, 27(4), 199-207. <https://doi:10.1515/dmdi-2012-0021>.
- Pettersen, E. F., Goddard, T. D., Huang, C. C., Couch, G. S., Greenblatt, D. M., Meng, E. C., & Ferrin TE. 2004. UCSF Chimera - a visualization system for exploratory research and analysis. *Journal of Computational Chemistry*, 25(13), 1605-1612. <https://doi.org/10.1002/jcc.20084>
- Rathgeber, J., Züchner, K. & Burchardi, H. Conditioning of air in mechanically ventilated patients. In: *Yearbook of intensive care and emergency medicine*. Springer, Berlin, Heidelberg, 1996. p. 501-519.
- Riggins, R. B., Mazzotta, M. M., Maniya, O. Z. & Clarke, R. 2010. Orphan nuclear receptors in breast cancer pathogenesis and therapeutic response. *Endocrine-Related Cancer*, 17, R213-R231. <https://doi.org/10.1677/ERC-10-0058>.
- Roberts, S. M., & Gibb, A. J. 2013. Introduction to enzymes, receptors and the action of small molecule drugs. Chapter 1, pp. 1-55. Waltham: Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-397176-0.00001-7>.
- Silva, P. A. & Riul, S. S. 2011. Câncer de mama: fatores de risco e detecção precoce. *Revista Brasileira de Enfermagem*, 64(6), 1016-21. <https://doi.org/10.1590/S0034-71672011000600005>.
- Sherman, M. H., Downes, M., & Evans, R. M. 2012. Nuclear receptors as modulators of the tumor microenvironment. *Cancer prevention research*, 5(1), 3-10. <https://doi:10.1158/1940-6207.CAPR-11-0528>.
- Xu, C., Cheng, F., Chen, L., Du, Z., Li, W., Liu, G., Lee, P. W., & Tang, Y. 2012. In silico prediction of chemical Ames mutagenicity. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 52, 2840-2847. <https://doi.org/10.1021/ci300400a>.
- Yamada, J., & Tomid, Y. 1996. Antimutagenic activity of caffeic acid and related compounds. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 60(2), 328-329. <https://doi.org/10.1271/bbb.60.328>.
- Yang, H., Lou, C., Sun, L., Li, J., Cai, Y., Wang, Z., Li, W., Liu, G., & Tang, Y. 2018. admetSAR 2.0: web-service for prediction and optimization of chemical ADMET properties. *Bioinformatics*, 35(6), 1067-1069. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty707>.
- Yang, J.-M., & Chen, C.-C. 2004. GEMDOCK: A generic evolutionary method for molecular docking. *Proteins: Structure, Function and Bioinformatics*, 55(2), 288-304. <https://doi.org/10.1002/prot.20035>.
- Wang, Z., Chen, Y., Liang, H., Bender, A., Glen, R. C., & Yan, A. 2011. P-glycoprotein substrate models using support vector machines based on a comprehensive data set. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 51(10), 1447-1456. <https://doi.org/10.1021/ci2001583>.
- Zhu, H., Martin, T. M., Ye, L., Sedykh, A., Young, D. M., & Tropsha, A. 2009. Quantitative structure-activity relationship modeling of rat acute toxicity by oral exposure. *Chemical Research in Toxicology*, 22(12), 1913-1921. <https://doi.org/10.1021/tx900189p>.

\*\*\*\*\*