

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ**

**BRUNO PEREIRA GABRIEL**

**ESTUDOS DE FARMACOLOGIA *IN SILICO* DE ÉSTERES FENÓLICOS  
IDEALIZADOS VISANDO À OBTENÇÃO DE INIBIDORES DE TIROSINA  
QUINASE**

**CAMPO MOURÃO**

**2021**

**BRUNO PEREIRA GABRIEL**

**ESTUDOS DE FARMACOLOGIA *IN SILICO* DE ÉSTERES FENÓLICOS  
IDEALIZADOS VISANDO À OBTENÇÃO DE INIBIDORES DE TIROSINA  
QUINASE**

**In silico pharmacology studies of idealized phenolic esters to obtain tyrosine  
kinase inhibitors**

Trabalho de conclusão de curso de graduação  
apresentada como requisito para obtenção do título de  
Licenciado em Química da Universidade Tecnológica  
Federal do Paraná (UTFPR).  
Orientador: Adriano Lopes Romero.

**CAMPO MOURÃO**

**2021**



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Esta licença permite remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, para fins não comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es) e que licenciem as novas criações sob termos idênticos. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

**BRUNO PEREIRA GABRIEL**

**ESTUDOS DE FARMACOLOGIA *IN SILICO* DE ÉSTERES FENÓLICOS  
IDEALIZADOS VISANDO À OBTENÇÃO DE INIBIDORES DE TIROSINA  
QUINASE**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação  
apresentado como requisito para obtenção do título de  
Licenciado em Química da Universidade Tecnológica  
Federal do Paraná (UTFPR).

Data de aprovação: 13/maio/2021

---

Adriano Lopes Romero  
Doutor  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

---

Ana Paula Peron  
Doutora  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

---

Rafaelle Bonzanini Romero  
Doutora  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

**CAMPO MOURÃO**

**2021**

*Dedico este trabalho a todos que me ajudaram nessa jornada,  
em especial, à minha família.*

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, pela minha vida, e por me permitir ultrapassar todos os obstáculos encontrados ao longo da realização deste trabalho.

A minha família, em especial aos meus pais Gerson e Ednalda e a minha esposa Mayara, que me incentivaram nos momentos difíceis e compreenderam a minha ausência.

A orientação desse trabalho realizada pelo professor Adriano Lopes Romero, pelos conselhos, pelas palavras de incentivo e até mesmo as críticas construtivas foram fundamentais para minha formação. Aqui deixo a minha gratidão.

A todos os professores com quem tive o privilégio de tanto aprender ao longo do meu percurso acadêmico, em especial as professoras Rafaelle, Daniela, Ana e Natália e os professores Adriano e Piza pelas ajudas que foram muito além das aulas. Guardarei todos vocês no meu coração.

Aos professores que constituíram as bancas de defesa do trabalho de conclusão de curso (Prof. Dr. Adriano Lopes Romero, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Paula Peron e Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Rafaelle Bonzanini Romero), pelas tão significativas contribuições ao meu trabalho.

À Universidade Tecnológica Federal do Paraná, pela oportunidade.

Aqui deixo o meu muito obrigado e ressalto que a conquista só foi possível graças as contribuições de cada um de vocês.

Saindo do berço  
para terra seca  
aqui estão  
de pé:  
átomos com consciência;  
matéria com curiosidade.

De pé a encarar o mar, refletindo:  
Eu, um universo de átomos,  
Um átomo no universo.

(Richard Feynman, 1998)

## RESUMO

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), o câncer é a segunda principal causa de morte no mundo e constitui um problema de saúde pública em diversos países, incluindo o Brasil, destacando claramente a necessidade de um foco global intensificado na prevenção e no tratamento do câncer. Atualmente, a quimioterapia oncológica desempenha um importante papel na terapia do câncer, entretanto, os fármacos antineoplásicos disponíveis ainda causam sérios efeitos colaterais e reações adversas, evidenciando a necessidade de pesquisa e planejamento de fármacos inovadores mais eficazes e seguros. Desse modo, visando contribuir para avanços na quimioterapia oncológica, o presente trabalho objetivou avaliar *in silico* as propriedades farmacocinéticas e bioatividades de cafeatos fenólicos idealizados. Para tanto, foram idealizados 10 cafeatos fenólicos que podem ser obtidos pela esterificação de compostos fenólicos (fenol, *o*-salicilaldeído, guaiacol, *p*-cresol, vanilina, *p*-salicilaldeído, eugenol, paeonol, carvacrol e timol) com o ácido cafeico, avaliados o perfil farmacocinético e toxicológico de cada substância por meio de ferramentas de bioinformática e quimioinformática e realizado um estudo de *docking* molecular frente à enzima tirosina quinase (PDB: 1AD5). Conforme os resultados obtidos, alguns cafeatos fenólicos demonstraram potencial de inibição para enzima tirosina quinase analisada no estudo de ancoragem molecular, sendo que alguns cafeatos interagiram no sítio de ligação do domínio quinase mediante interação com os resíduos de aminoácidos Leu-393, Val-281, Glu-339 e Met-341, competindo com o substrato pelo sítio ativo, assim, podem inibir a atividade enzimática desse bioreceptor. Ressalve-se que no contexto da quimioterapia oncológica, a inibição de tirosina quinases é uma estratégia importante para suprimir o avanço de células cancerosas. Além disso, as diferentes substâncias avaliadas neste estudo apresentaram propriedades moleculares e farmacocinéticas adequadas para candidatos a fármacos, de modo que os valores de toxicidade estão dentro do intervalo aceito (Categoria III), incluindo também a toxicidade dos metabólitos, e apresentaram resultados negativos para o modelo de carcinogenicidade e mutagênese (teste AMES). Referente à absorção, nenhum dos compostos violou a “Regra dos 5” de Lipinski, portanto devem ter boa biodisponibilidade oral; e também demonstraram valores positivos para permeabilidade em células Caco-2 e não são substratos ou inibidores de Glicoproteína-P, logo, é provável que tenham boa absorção se administrado por via oral. Em relação à inibição das diferentes isoformas do citocromo P450, somente algumas moléculas mostraram valores positivos para inibição de determinadas isoformas. Portanto, os compostos apresentaram boas propriedades ADMET e uma favorável interação com a enzima tirosina quinase no estudo de ancoragem molecular. Ademais, os resultados mostram a necessidade mais estudos computacionais para se confirmar os resultados, em particular novos estudos de ancoragem molecular por modelos mais dinâmicos para resultados mais precisos.

**Palavras-chave:** Estudo *in silico*; cafeatos fenólicos; tirosina quinases.

## ABSTRACT

According to the World Health Organization (WHO), cancer is the second leading cause of death in the world and constitutes a public health problem in several countries, including Brazil, clearly highlighting the need for an intensified global focus on prevention and in the treatment of cancer. Currently, cancer chemotherapy plays an important role in cancer therapy, however, the antineoplastic drugs available today still cause serious side effects and adverse reactions, highlighting the need for more effective and safe research and planning of innovative drugs. Thus, in order to contribute to advances in cancer chemotherapy, the present study aimed to evaluate *in silico* the pharmacokinetic properties and bioactivities of idealized phenolic caffeates. For this purpose, 10 phenolic caffeates were conceived that can be obtained by esterifying with phenolic compounds (phenol, *o*-salicylaldehyde, guaiacol, *p*-cresol, vanillin, *p*-salicylaldehyde, eugenol, paeonol, carvacrol and thymol), evaluated the pharmacokinetic and toxicological profile of each substance using bioinformatics and chemoinformatics tools and a molecular docking study was carried out against the enzyme tyrosine kinase (PDB: 1AD5). According to the results obtained, some phenolic caffeates demonstrated potential inhibition for the enzyme tyrosine kinase analyzed in the molecular anchorage study, and some caffeates interacted at the kinase domain binding site through interaction with the amino acid residues Leu-393, Val-281 Glu-339 and Met-341, competing with the substrate for the active site, thus, can inhibit the enzymatic activity of this bioreceptor. It should be noted that in the context of cancer chemotherapy, the inhibition of tyrosine kinases is an important strategy to suppress the advance of cancer cells. In addition, the different substances evaluated in this study showed adequate molecular and pharmacokinetic properties for possible drug candidates, so that the toxicity values are within the accepted range (Category III), also including the toxicity of the metabolites, and showed negative results for the carcinogenicity and mutagenesis model (AMES test). Regarding absorption, none of the compounds violated Lipinski's "Rule of 5", so they must have good oral bioavailability; and also demonstrated positive values for permeability in Caco-2 cells and are not substrates or inhibitors of P-Glycoprotein, therefore, they are absorbed in the intestine and are likely to have good absorption if administered orally. Regarding the inhibition of different cytochrome P450 isoforms, only a few molecules showed positive values for inhibition of certain isoforms. Therefore, the compounds showed good ADMET properties and a favorable interaction with the enzyme tyrosine kinase in the molecular anchorage study. In addition, the results show the need for more computational studies to confirm the results, in particular new studies of molecular anchoring by more dynamic models for more accurate results.

**Keywords:** *In silico* study; phenolic caffeates; tyrosine kinases.



## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> – Fosforilação de substratos proteicos por enzimas quinases. ....	18
<b>Figura 2</b> – Principais receptores tirosina quinases. ....	19
<b>Figura 3</b> – Fármacos inibidores da família do fator de crescimento epidérmico. ....	19
<b>Figura 4</b> – Diferentes tipos de inibição de proteínas quinases. ....	20
<b>Figura 5</b> - Representação estrutural de inibidores de tirosina quinases. ....	22
<b>Figura 6</b> – Diferentes fármacos inibidores de tirosina quinases (ITKs). ....	23
<b>Figura 7</b> – Representação estrutural do ácido cafeico e do ácido cafeico esterificado ao ácido quínico (ácido clorogênico). ....	25
<b>Figura 8</b> – Representação estrutural do éster fenil-etílico do ácido cafeico. ....	26
<b>Figura 9</b> - Representação da rota metabólica de biossíntese do ácido cafeico. ....	27
<b>Figura 10</b> - Classificação do ácido cafeico no grupo de compostos fenólicos. ....	28
<b>Figura 11</b> - Representação da estrutura química dos compostos fenólicos naturais. ....	28
<b>Figura 12</b> - Processo de P&D de novos medicamentos. ....	30
<b>Figura 13</b> - Avaliações envolvida em um estudo de farmacologia in silico. ....	31
<b>Figura 14</b> - Ancoragem molecular de inibidores da enzima Ciclooxygenase (COX-2). ....	33
<b>Figura 15</b> - Representação de um híbrido da talidomida com atividade antiasmática. ....	35
<b>Figura 16</b> - Representação do híbrido ácido lipoico/cumarina. ....	36
<b>Figura 17</b> - Compostos fenólicos bioativos avaliados neste estudo. ....	37
<b>Figura 18</b> - Hibridação molecular do ácido cafeico ( <b>6</b> ) com o fenol ( <b>16</b> ). ....	37
<b>Figura 19</b> - Representação dos cafeatos fenólicos ( <b>29-38</b> ) avaliados neste trabalho. ....	38
<b>Figura 20</b> - Estrutura química do ligante cristalográfico ANP. ....	45
<b>Figura 21</b> - Representação da enzima tirosina quinase (PDB: 1AD5) com o ligante cristalográfico ANP, disponível no servidor Protein Data Bank. ....	46
<b>Figura 22</b> - Representação da interação dos cafeatos fenólicos e de seus precursores com domínio tirosina quinase obtida do estudo de ancoragem molecular. ....	47

<b>Figura 23</b> - Representação do sítio ativo da tirosina quinase contendo: (a) o composto <b>29</b> ; (b) o composto <b>34</b> e; (b) o composto <b>37</b> .....	48
<b>Figura 24</b> - Agrupamento hierárquico das interações dos compostos avaliados com os resíduos de aminoácidos da proteína tirosina quinase (em destaque estão os resíduos de aminoácidos de seu sítio ativo).....	50
<b>Figura 25</b> - Representação do cafeato de fenila ( <b>29</b> ), cafeato de salicilaldeila ( <b>34</b> ) e cafeato de carvacrila ( <b>37</b> ) indicando os pontos de metabolização (R1 e R2). .....	56

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para 2020 por sexo, exceto pele não melanoma.....	16
<b>Tabela 2</b> - Resultado obtido do estudo de predição de bioatividade dos compostos avaliados.....	43
<b>Tabela 3</b> - Energias, em kcal.mol <sup>-1</sup> , obtidas do estudo de ancoragem molecular.....	47
<b>Tabela 4</b> - Valores de propriedades moleculares, calculadas na ferramenta Molinspiration, dos compostos avaliados. ....	51
<b>Tabela 5</b> - Resultados de propriedades farmacocinéticas (absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade) dos compostos avaliados neste trabalho, calculados na ferramenta admetSAR.....	53
<b>Tabela 6</b> - Toxicidade oral aguda dos metabólitos dos cafeatos fenólicos avaliados. ....	58

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>ADMET</b>	Administração, Distribuição, Metabolização, Excreção e Toxicidade
<b>CYP450</b>	Citocromo P 450
<b>DL<sub>50</sub></b>	Dose Letal Mediana
<b>FDA</b>	<i>Food and Drug Administration</i>
<b>GP</b>	Glicoproteínas
<b>INCA</b>	Instituto Nacional do Câncer
<b>ITK</b>	Inibidores de Tirosina Quinases
<b>LH</b>	Ligação de Hidrogênio
<b>miLogP</b>	Coefficiente de Partição Octanol/Água
<b>MM</b>	Massa Molar nALH Número de Aceptores de Ligação de Hidrogênio
<b>nDLH</b>	Número de Doadores de Ligação de Hidrogênio
<b>nrotb</b>	Número de Bandas Rotáveis
<b>NRTK</b>	Tirosina Quinases Não Receptoras
<b>OMS</b>	Organização Mundial da Saúde
<b>RTK</b>	Tirosina Quinase Receptoras
<b>TPSA</b>	Área Superficial Topológica Polar
<b>VDW</b>	Interações de van der Waals

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>13</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b>	<b>15</b>
<b>2.1</b>	<b>Objetivo geral</b>	<b>15</b>
<b>2.2</b>	<b>Objetivos específicos</b>	<b>15</b>
<b>3</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	<b>16</b>
<b>3.1</b>	<b>Câncer</b>	<b>16</b>
3.1.1	Tipos de câncer de maior incidência no Brasil	16
3.1.2	Proteínas tirosina quinases	17
<b>3.2</b>	<b>Quimioterapia oncológica</b>	<b>20</b>
3.2.1	Mecanismo de ação de fármacos antineoplásicos inibidores de tirosina quinases	20
<b>3.3</b>	<b>Produtos naturais e as diferentes fontes de fármacos</b>	<b>23</b>
3.3.1	Fontes de agentes terapêuticos	23
3.3.2	Ácido cafeico	24
3.3.3	Biossíntese do ácido cafeico	26
3.3.4	Compostos fenólicos naturais bioativos	27
<b>3.4</b>	<b>Estudos de farmacologia <i>in silico</i></b>	<b>29</b>
3.4.1	O papel da farmacologia <i>in silico</i> no planejamento de novos fármacos	29
3.4.2	Estudos de farmacologia <i>in silico</i>	31
3.4.3	Planejamento racional de fármacos no contexto da farmacologia <i>in silico</i>	33
<b>4</b>	<b>PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS</b>	<b>37</b>
<b>4.1</b>	<b>Hibridação molecular do ácido cafeico com compostos fenólicos naturais</b>	<b>37</b>
<b>4.2</b>	<b>Ferramentas computacionais de farmacologia <i>in silico</i></b>	<b>38</b>
4.2.1	Modelagem das estruturas moleculares	39
4.2.2	Predição das propriedades moleculares e bioatividades	39
4.2.3	Estudo de Ancoragem Molecular	40
4.2.4	Representação bidimensional das interações entre as micromoléculas e a enzima	41

4.2.5	Predição de Propriedades Farmacocinéticas	41
4.6	Predição de metabólitos e suas toxicidades	42
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>43</b>
<b>5.1</b>	<b>Avaliação da bioatividade</b>	<b>43</b>
<b>5.2</b>	<b>Ancoragem molecular: análise da interação receptor-ligante de um domínio tirosina quinase</b>	<b>45</b>
<b>5.3</b>	<b>Propriedades moleculares e propriedades farmacocinéticas</b>	<b>51</b>
<b>5.4</b>	<b>Predição de metabólitos e suas toxicidades</b>	<b>55</b>
<b>6</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	<b>59</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>61</b>

## 1 INTRODUÇÃO

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), o câncer é a segunda principal causa de morte no mundo. A estimativa global do câncer em 2020 foi de aproximadamente 19,3 milhões casos e, segundo os dados da OMS, o número estimado de mortes foi cerca de 10 milhões. Os casos de câncer continuam a aumentar no mundo em função do aumento da expectativa de vida, epidemiológica e demográfica da população, de modo que a estimativa para 2040 é de 29,4 milhões de casos, impulsionando a busca por medidas preventivas e tratamentos eficazes e seguros contra os diferentes tipos de câncer.

Um dos principais tratamentos oferecidos a pessoas com câncer é a quimioterapia, mas os quimioterápicos disponíveis ainda causam sérios efeitos colaterais, pois não apresentam uma especificidade efetiva entre o fármaco e a enzima (MA et al., 2020). Desse modo, o estudo de fármacos antineoplásicos, suas reações adversas e interações medicamentosas é relevante para melhoria da quimioterapia oncológica (DALLAVALLE et al., 2020;). A fim de melhorar tal especificidade, a farmacologia *in silico* vem sendo utilizada por diferentes grupos de pesquisa para otimização de grupamentos associados aos efeitos farmacológicos e toxicológicos de diferentes moléculas com potencial terapêutico (MUSUAMBA et al., 2020).

Nesse contexto, o nosso grupo de pesquisa tem identificado *in silico* o potencial farmacológico de alguns fenilpropanóides, principalmente o ácido cafeico e o ácido cinâmico, demonstrando que estas substâncias apresentam atividade anticancerígena e propriedades farmacocinéticas promissoras (ABOTALEB et al., 2020; ELANSARY et al., 2020). O potencial anticancerígeno de alguns fenilpropanóides, em particular do ácido cafeico, está relacionada a capacidade desse produto natural de inibir a atividade de enzimas tirosina quinases, que desempenham papéis importantes na evolução de células cancerosas (FERIOTTO et al., 2021; TENG et al., 2020; KANG et al., 2009).

Diante disso, é possível modelar moléculas de derivados do ácido cafeico a fim de se obter substâncias mais seletivas frente à enzimas tirosina quinase superexpressas em células cancerosas, coadjuvando para o desenvolvimento de fármacos mais eficazes e seguros para o tratamento do câncer em relação aos quimioterápicos utilizados atualmente. Assim, buscando contribuir para os avanços na

quimioterapia oncológica, este trabalho teve por objetivo desenvolver estudos de farmacologia *in silico* das propriedades farmacocinéticas e bioatividades de cafeatos fenólicos idealizados, os quais têm se mostrado promissores no âmbito da Química Farmacêutica e Medicinal.



## 2 OBJETIVOS

### 2.1 objetivo geral

Avaliar *in silico* as propriedades farmacocinéticas e bioatividades de cafeatos fenólicos idealizados.

### 2.2 Objetivos específicos

- Avaliar *in silico* as propriedades moleculares e ADMET (Absorção, Distribuição, Metabolismo, Excreção e Toxicidade) do ácido cafeico, de compostos fenólicos e de cafeatos fenólicos idealizados;
- Determinar bioatividades e possíveis bioreceptores para o ácido cafeico, compostos fenólicos e cafeatos fenólicos idealizados;
- Determinar efeitos tóxicos de possíveis metabólitos dos cafeatos fenólicos idealizados que se mostrarem promissores nos estudos *in silico*;
- Realizar estudo de ancoragem molecular do ácido cafeico, de compostos fenólicos e de cafeatos fenólicos idealizados;
- Analisar, utilizando projeções bidimensionais e tridimensionais, as interações do ácido cafeico, de compostos fenólicos e de cafeatos fenólicos idealizados com enzima tirosina quinase.


### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 câncer

##### 3.1.1 Tipos de câncer de maior incidência no Brasil

De acordo com Instituto Nacional do Câncer (INCA), em 2020, 626.030 mil novos casos de neoplasias foram registrados no Brasil, incluindo o câncer de pele não melanona, que é o mais incidente entre homens e mulheres no país. Além disso, o de mama em mulheres e o de próstata em homens é comum em quase todas regiões do país, e são os mais incidentes no Brasil depois do câncer de pele não melanona (Tabela 1). A nível global, a OMS aponta que o câncer é a segunda principal causa de morte e responsável por cerca de 10 milhões de óbitos em 2020. Estima-se que 1 em cada 6 mortes é causada por tumores malignos.

**Tabela 1** – Relação percentual dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para 2020 por sexo, exceto pele não melanoma.

Localização primária	Casos	%			Localização primária	Casos	%
Próstata	65.840	29,2%			Mama feminina	66.280	29,7%
Cólon e Reto	20.540	9,1%			Cólon e Reto	20.470	9,2%
Traqueia, Brônquio e Pulmão	17.760	7,9%			Colo do útero	16.710	7,5%
Estômago	13.360	5,9%			Traqueia, Brônquio e Pulmão	12.440	5,6%
Cavidade Oral	11.200	5,0%			Glândula Tireoide	11.950	5,4%
Esôfago	8.690	3,9%			Estômago	7.870	3,5%
Bexiga	7.590	3,4%			Ovário	6.650	3,0%
Linfoma não Hodgkin	6.580	2,9%			Corpo do útero	6.540	2,9%
Laringe	6.470	2,9%			Linfoma não Hodgkin	5.450	2,4%
Leucemias	5.920	2,6%			Sistema Nervoso Central	5.230	2,3%

\* Números arredondados para múltiplos de 10

**Fonte:** Adaptado de INCA (2020).

O câncer ou neoplasia é um conjunto de doenças caracterizada pelo crescimento desordenado (maligno) de células. Todos os tipos de câncer têm em comum alterações de genes do ácido desoxirribonucleico (DNA) da célula. Desse modo, o câncer é considerado uma doença celular de origem genética, ocasionado pela mutação de genes que controlam o processo proliferativo das células. As mutações genéticas em duas classes de genes, os Proto-oncogene e os Genes Supressores de Tumor, estão envolvidas na patogênese do câncer. Quando esses genes sofrem mutação há uma disfunção no processo de proliferação celular, levando ao aparecimento de tumores (STRATTON; CAMPBELL; FUTREAL, 2009).

Os Proto-oncogenes codificam proteínas que atuam na proliferação celular, dentre as funções intracelulares desempenhadas por elas, tem-se: atuação como proteínas quinases, fatores de crescimento, receptores de fatores de crescimento ou transdutores de sinal. A mutação em proto-oncogenes forma genes anormais denominados oncogenes. Essa ativação em oncogenes leva ao desenvolvimento de câncer (VOGELSTEIN et al., 2013; GARRARAY et al., 2013).

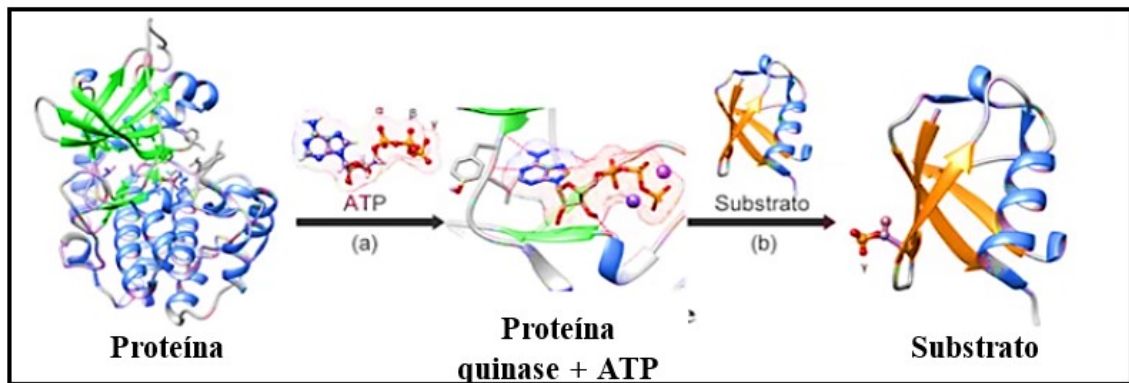
Os Genes Supressores de Tumor estão envolvidos na codificação de proteínas que atuam em pontos de checagem no ciclo celular, assim quando é verificada uma mutação genética no DNA a divisão celular é interrompida pela ação desses genes, impossibilitando a formação de células cancerosas. No entanto, os genes supressores de tumor também estão suscetíveis a sofrerem mutações, o que inativa o sistema de defesa na divisão celular, contribuindo para o aparecimento e progressão de neoplasias (STRATTON; CAMPBELL; FUTREAL; 2009).

### 3.1.2 Proteínas tirosina quinases

Diferentes estudos têm destacado a importância de tirosina quinases na pesquisa e desenvolvimento de fármacos para quimioterapia oncológica (GHOSH; MARROCCO; YARDEN, 2020). Desse modo, os domínios quinases tem sido cada vez mais estudados no âmbito da Química Farmacêutica e Medicinal.

As quinases são enzimas que catalisam a fosforilação de substratos proteicos a partir do ATP e são cruciais em processos celulares de transdução de sinal, diferenciação celular, proliferação e progressão do ciclo celular (Figura 1). O processo de catalização inicia pela molécula de ATP se ligando ao sítio de ligação da quinase e, em seguida, ocorre a fosforilação ( $\gamma$ -fosfato de ATP é transferido para um resíduo Ser, Thr ou Tyr do substrato / proteína). Após a fosforilação o substrato é liberado da quinase (UBERSAX; FERRELL; 2007; LIU et al., 2013).

**Figura 1** – Fosforilação de substratos proteicos por enzimas quinases.



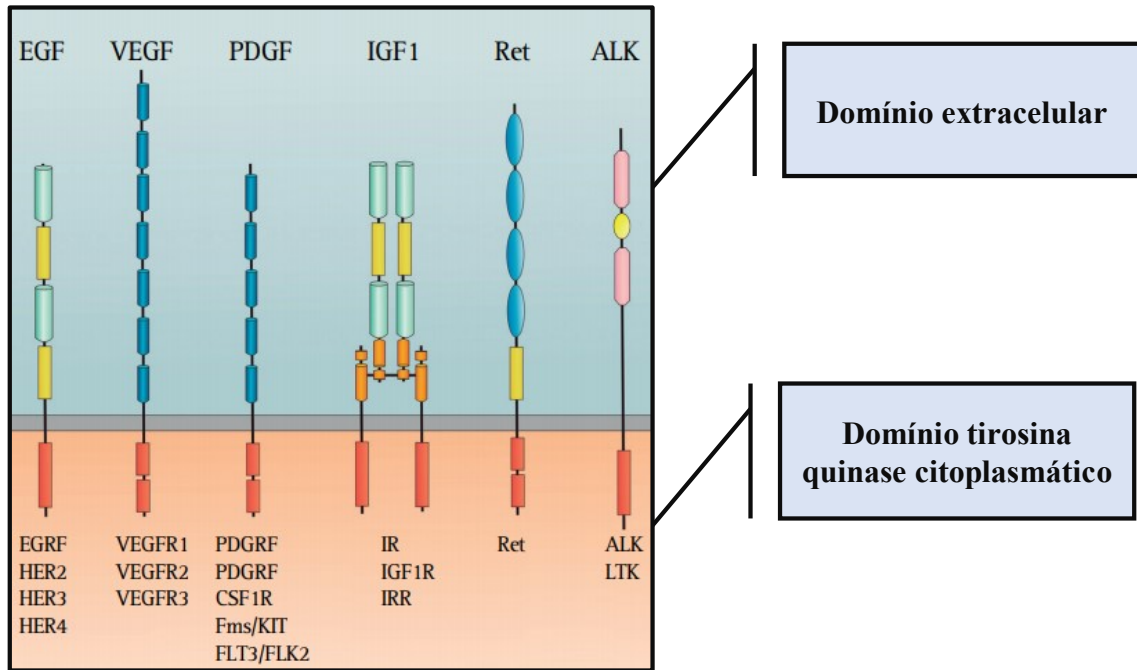
**Fonte:** Adaptado de Ubersax e Ferrell (2007, p. 531).

As tirosina quinases constituem um grupo de mais de 520 proteínas que já foram identificadas no organismo humano, sendo classificadas em tirosina quinases receptoras (RTKs) e tirosina quinases não receptoras (NRTKs) (WALSH, GARNEAU-TSODIKOVA; GATTO, 2005).

As RTKs apresentam três segmentos: um domínio extracelular no qual um ligante específico se liga, um domínio transmembranar e um domínio tirosina quinase citoplasmático. (Figura 2). Quando o domínio extracelular é ativado pelo seu respectivo ligante ocorre um:

[...] processo de dimerização, resultando na fosforilação do domínio intracelular, através da reação entre ATP e resíduos de tirosina. Em seguida, ocorre a fosforilação de proteínas-alvo que possuem o domínio SH2, o qual representa um sítio de reconhecimento para as fosfotirosinas. A fosforilação intracelular inicia uma cascata de reações citoplasmáticas que culmina em diversas respostas celulares (LEITE et al., 2012, p. 132).

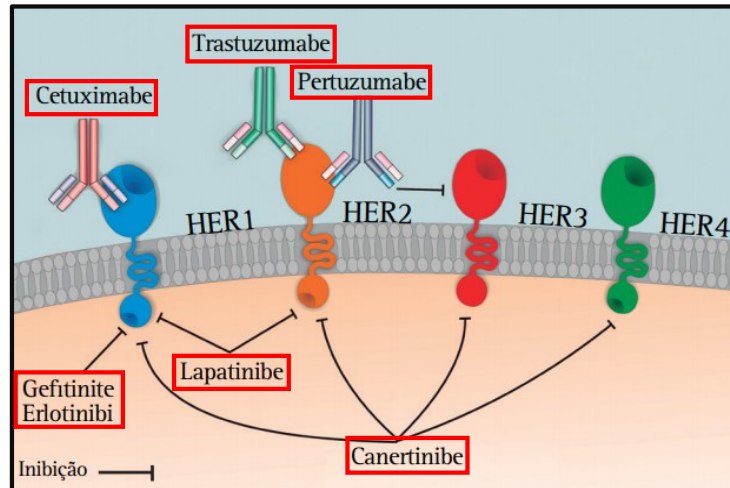
**Figura 2 –** Principais receptores tirosina quinases.



Fonte: Adaptado de LEITE et al. (2012, p. 132).

Vale ressaltar que as tirosina quinases desempenham uma função fisiológica fundamental na transdução de sinal e regulam o crescimento e a sobrevivência celular, bem como o ciclo celular. Em função disso, no caso de células cancerosas os receptores tirosina quinases são importante alvos terapêuticos, já que a inibição de sua atividade enzimática é uma medida terapêutica para suprimir a proliferação de células cancerosas. Atualmente, diferentes fármacos utilizados no tratamento quimioterápico do câncer atuam inibindo a atividade da tirosina-quinases (destacados em vermelho na Figura 3), impedindo a fosforilação do domínio intracelular.

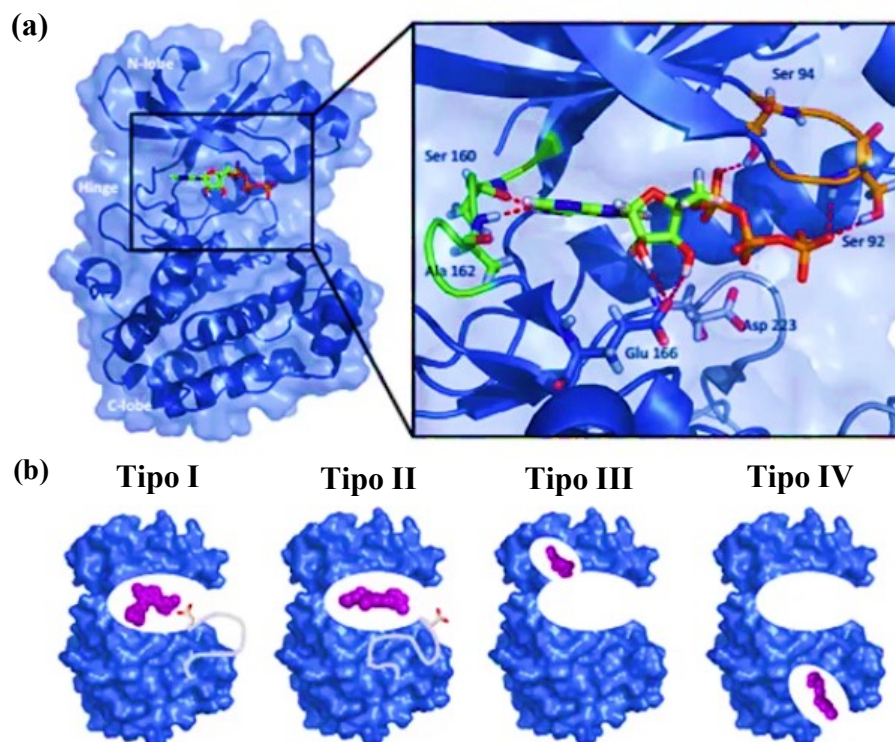
**Figura 3 –** Fármacos inibidores da família do fator de crescimento epidérmico.



Fonte: Adaptado de LEITE et al. (2012, p. 133).

Existem diferentes regiões em proteínas quinases onde os fármacos podem interagir e inibir a atividade enzimática desse bioreceptor. Na literatura são descritos quatro tipos de inibição de domínios quinases {Figura 4(b)}, sendo que o Tipo I e II incluem ancoragem das moléculas no sítio de ligação {Figura 4(a)}, e o Tipo III e IV é devido a interações no sítio alostérico, o que modifica a conformação da enzima (COHEN, 2002; JOHSON, 2009).

**Figura 4** – Diferentes tipos de inibição de proteínas quinases.



Fonte: Norman, Toader e Ferguson (2012, p. 275).

## 3.2 Quimioterapia oncológica

### 3.2.1 Mecanismo de ação de fármacos antineoplásicos inibidores de tirosina quinases

A Quimioterapia é um dos principais tratamentos oferecidos a pessoas com câncer, entretanto, os quimioterápicos disponíveis ainda causam importantes efeitos colaterais, pois não apresentam uma seletividade efetiva entre o fármaco e o bioreceptor. Diante disso, o estudo de fármacos antineoplásicos, suas reações adversas e interações medicamentosas é relevante para melhoria da quimioterapia

oncológica, objetivando substâncias mais eficazes e seguras, de modo a proporcionar uma melhoria na qualidade de vida de pacientes submetidos a esse tipo de tratamento (DALLAVALLE et al., 2020).

Atualmente, existem inúmeros fármacos aprovados pela *FDA (Food and Drug Administration)* voltados para quimioterapia oncológica, sendo que a eficácia desses medicamentos depende do tipo de câncer e o estágio no qual o paciente se encontra. Além disso, cada medicamento apresenta seu próprio mecanismo de atuação e perfil clínico, por essa razão, cada fármaco tem seu próprio quadro toxicológico (DICKENS; AHMED, 2008).

Como já mencionado anteriormente, no contexto da quimioterapia oncológica as tirosina quinases são importantes alvos de fármacos. Dessa forma, diversos medicamentos antineoplásicos conhecidos hoje e aprovados pela *FDA* são inibidores de tirosina quinases, como aqueles utilizados no tratamento da Leucemia Mieloide Crônica (LMC) e em tumores sólidos (AZEVEDO et al., 2017), tais como: imatinibe (1), desatinibe (2) e nilotinibe (3), bosutinibe (4) e ponatinibe (5), representados na Figura 5.

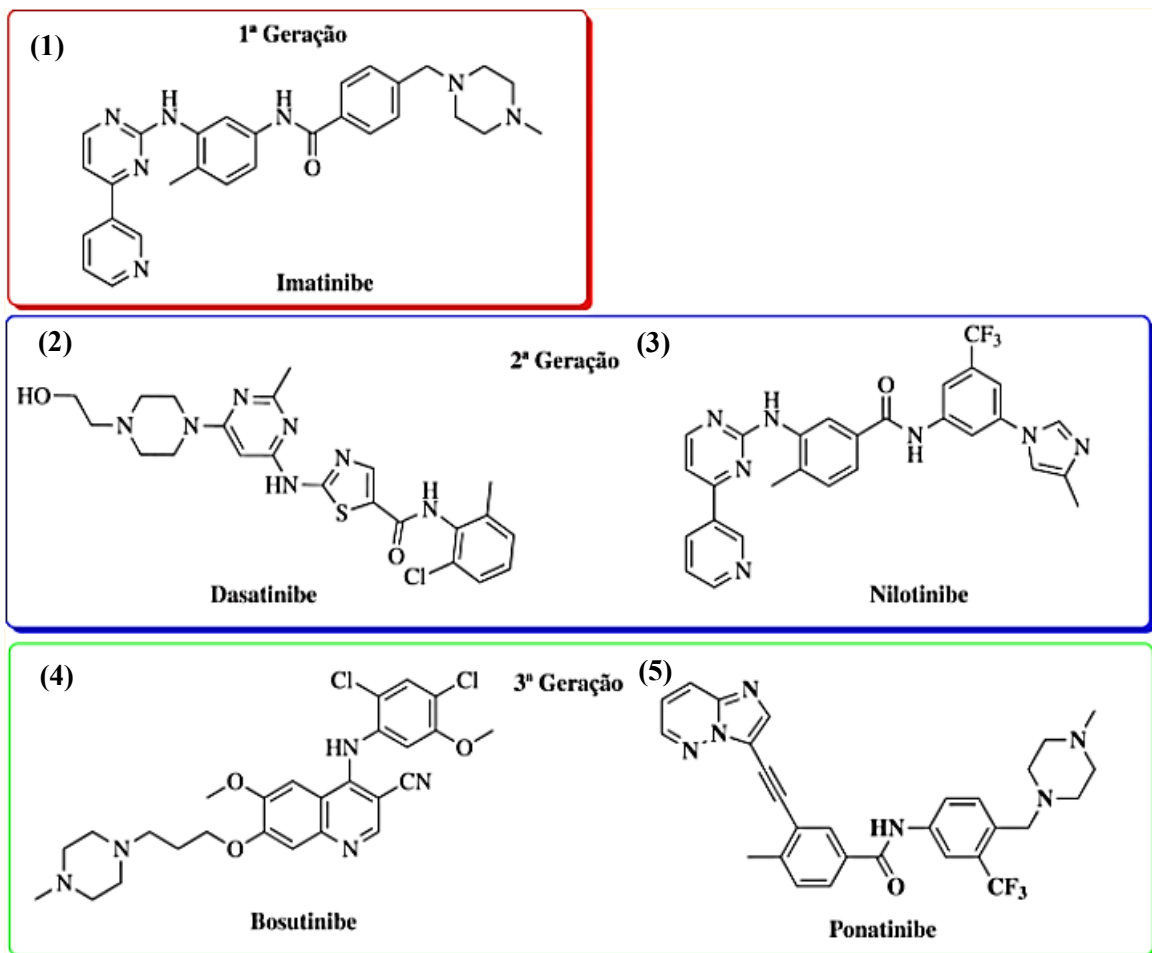
O mesilato de imatinibe (1) é um medicamento antineoplásico desenvolvido em 2001 que inibe de forma competitiva o sítio de ligação da ATP na enzima BCR-ABL, que tem atividade tirosina quinase. A inibição dessa enzima bloqueia a transdução de sinal prevenindo, assim, a proliferação celular. De acordo com Azevedo et al. (2017), o imatinibe é mais eficaz em pacientes recém diagnosticados com câncer, e atualmente cerca de 20 a 30% das pessoas são resistentes a esse medicamento.

O desatinibe (2) é um inibidor tanto da enzima BCR-ABL quanto de enzima da família SRC, que são tirosina quinases intracelulares envolvidas no crescimento celular. Esse medicamento foi aprovado pela FDA em 2006 e se mostrou eficaz em pacientes que apresentam resistência ao imatinibe, porém foi observado que em estágios avançados do câncer o desatinibe tem toxicidade elevada devida as altas doses que são necessárias na terapia. Já o nilotinibe (3), que também faz parte da 2ª Geração, possui uma estrutura química similar ao imatinibe (Figura 5) e surgiu de um planejamento racional com objetivo de ser mais eficaz e seguro que o imatinibe, sendo utilizado em pacientes resistentes ou intolerantes ao imatinibe (AZEVEDO et al., 2017).

O busotinibe (4) foi autorizado pela FDA em 2012 e seu mecanismo de ação é semelhante ao do desatinibe, isto é, é um duplo inibidor das enzimas BCR-ABL e

SRC. O busotinibe é utilizado em pacientes resistentes ou intolerantes ao imatinibe e seu efeito terapêutico é alcançado em menores doses que este último. O ponatinibe (5) é da 3ª Geração de ITKs e é indicado para terapia de pacientes que apresentam resistência ou intolerância aos medicamentos apresentados anteriormente (AZEVEDO et al., 2017).

**Figura 5** - Representação estrutural de inibidores de tirosina quinases

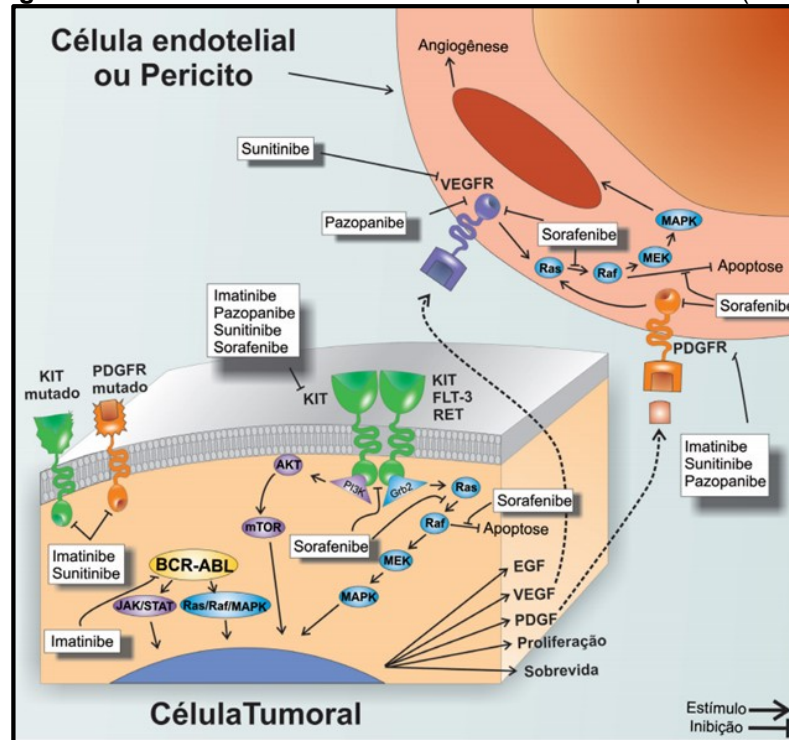


**Fonte:** Azevedo et al. (2017, p. 974).

Além desses fármacos antineoplásicos, outros medicamentos inibidores de tirosina quinases autorizados pela FDA incluem: gifitinibe, erlotinibe, lapatinibe, canertinibe, sunitinibe, sorafenibe, vandetanibe, crizotinibe e pazopanibe. Essas substâncias possuem um mecanismo de inibição e perfil clínico próprio, mas de modo geral tais moléculas bloqueiam a atividade tirosina quinase mediante a inibição do receptor extracelular no qual o ligante específico se liga e/ou do domínio tirosina quinase citoplasmático (LEITE et al., 2012), conforme é demonstrado na Figura 6.



**Figura 6** – Diferentes fármacos inibidores de tirosina quinases (ITKs).



Fonte: Leite et al. (2012, p. 137).

Nesse contexto de busca por fármacos antineoplásicos inovadores, aumentou-se o interesse de diferentes grupos de pesquisa por produtos naturais como fontes de novos agentes terapêuticos anticâncer. Isso está relacionado, conforme alguns estudos têm mostrado (SILVA; EMERY, 2018; HUANG; LU; DING, 2021), ao potencial promissor dos produtos naturais de inibir enzimas tirosina quinases. Desse modo,

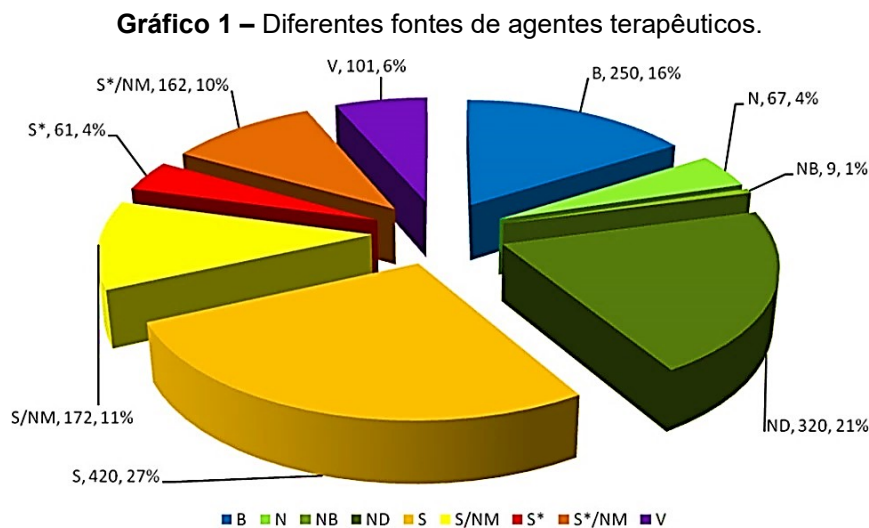
o surgimento de terapias molecularmente direcionadas remodelou a paisagem do tratamento do câncer. À medida que o campo se desenvolve, o interesse da pesquisa de produtos naturais tem sido atraído para a busca de fármacos. Esses esforços produziram uma grande coleção de produtos naturais com atividades potenciais contra vários alvos anticancerígenos, que, embora sendo principalmente imaturos como candidato a fármacos, fornece diversos andaimes químicos para pesquisa e desenvolvimento de agentes terapêuticos (HUANG; LU; DING, 2021, p. 7).

### 3.3 Produtos naturais e as diferentes fontes de fármacos

#### 3.3.1 Fontes de agentes terapêuticos

No âmbito da Química Farmacêutica e Medicinal, os produtos naturais e seus derivados tem ganhado espaço como fonte de componentes ativos para fármacos.

Em estudo de 1981 a 2014, foi constatado que apenas 27% dos medicamentos aprovados nesse período são sintéticos. Os demais, cerca de 73%, possuem relação direta ou indireta com produtos naturais (NEWMAN; CRAGG, 2016), conforme é apresentado abaixo (Gráfico 1), no qual: B macromolécula biológica; N produto natural inalterado; NB fármaco de origem botânica; ND derivado de produto natural; S fármaco sintético; S\* fármaco sintético (NP farmacofórico); V vacina; NM imitação de produto natural.



Fonte: Newman e Cragg (2016, p. 631).

Além desses resultados ressaltarem a importância dos produtos naturais para os Químicos Farmacêuticos e Farmacologistas, eles indicam que os compostos de origem vegetal e animal são muitas vezes modelos para o desenvolvimento de novos fármacos. Isto é, ocasionalmente um produto natural é utilizado em sua forma inalterada, salvo quando as estruturas são muito complexas para serem manipuladas em laboratórios. A principal causa disso é o aumento de custo quando se usa o princípio ativo isolado diretamente da planta, já que a via sintética acaba sendo mais rentável e apresenta a mesma eficácia.

### 3.3.2 Ácido cafeico

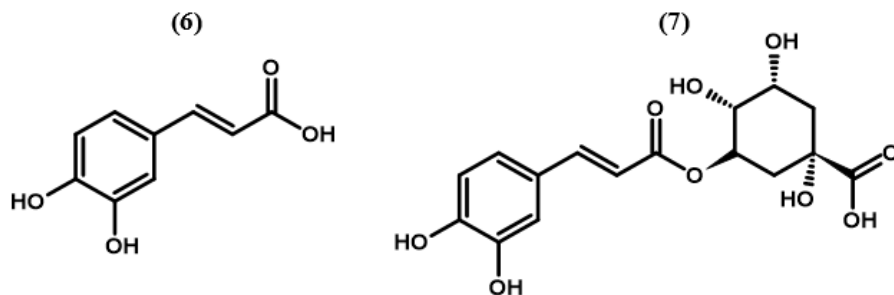
Dentre os compostos bioativos de origem vegetal, o ácido cafeico (ácido 3,4-dihidroxicinâmico) se destaca pelas suas propriedades físico-químicas e atividades biológicas. Vários estudos têm demonstrado *in vitro* e *in vivo* o potencial farmacológico

e os efeitos terapêuticos desse fenilpropanóide, como atividade antitumoral (RAJENDRA-PRASAD et al., 2011), antimalárica (ALSON et al., 2018), antioxidante (MORI; IWAHASHI, 2009; GULCIN, 2006), imunomoduladora, anti-inflamatória (CHAO et al., 2009) e antiviral (IKEDA et al., 2011). Plantas ricas em ácido cafeico são comumente usados na medicina popular para fins terapêuticos (ZHAO et al., 2004; COLLINS, 2017, p. 6).

Quimicamente, o ácido cafeico apresenta em sua estrutura um esqueleto aromático fenólico e grupos funcionais acrílicos {Figura 1(a)}: o ácido carboxílico (-COOH) e dois grupos metilenos (-CH=CH-). Os grupos ativos da molécula de ácido cafeico são os seus substituintes acrílicos e as suas hidroxilas (COLLINS, 2017).

O ácido cafeico (6) (Figura 7), bem como outros ácidos hidroxicinâmicos, são biossintetizados por plantas, assim ele é frequentemente encontrado em muitos alimentos e bebidas de origem vegetal, geralmente esterificados ao ácido quínico – exceto em alguns alimentos como tomate e cerveja, onde ele está presente em sua forma livre (OLIVEIRA; BASTOS, 2011). Segundo Collins (2017), o ácido cafeico é absorvido no intestino delgado, já o ácido clorogênico (7) (Figura 7) é hidrolisado no estômago e no intestino, logo não ocorre absorção da estrutura íntegra.

**Figura 7** – Representação estrutural do ácido cafeico e do ácido cafeico esterificado ao ácido quínico (ácido clorogênico).

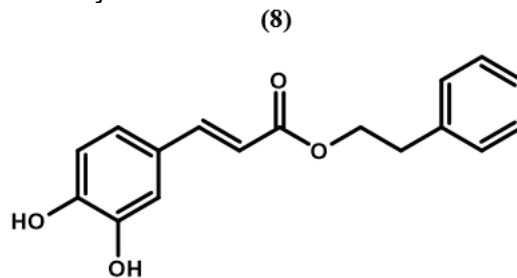


Fonte: Autoria própria (2021).

Nos anos de 1990, vários trabalhos indicaram que derivados fenólicos do ácido cafeico também apresentariam atividade biológica (GRUNBERGER et al., 1988), em particular o cafeato de fenitila (8), representado na Figura 8, mais conhecido por éster

fenil-etílico do ácido cafeico. Essa substância foi primeiramente isolada da própolis em 1988, por Grunberger et al. (1988). Recentemente, alguns estudos têm ampliado ainda mais os conhecimentos sobre os efeitos terapêuticos desse produto natural, de modo que é hoje um dos derivados do ácido cafeico de grande interesse farmacológico (OMENE et al., 2019; WILLIANS et al., 2017; GULÇIN et al., 2016; ARMUTCU et al., 2015).

**Figura 8** – Representação estrutural do éster fenil-etílico do ácido cafeico.



**Fonte:** Autoria própria (2021).

Dentre as atividades reportadas na literatura, o cafeato de fenitila destaca-se como agente antitumoral, antiviral, anti-inflamatório, antioxidante e antimicrobiano (KURATA et al., 2011). Além disso, recentemente, Kumar e colaboradores (2020) constataram que o éster fenil-etílico do ácido cafeico interage com a protease principal ( $M^{Pro}$ ) do SARS-CoV-2 e inibe sua atividade.

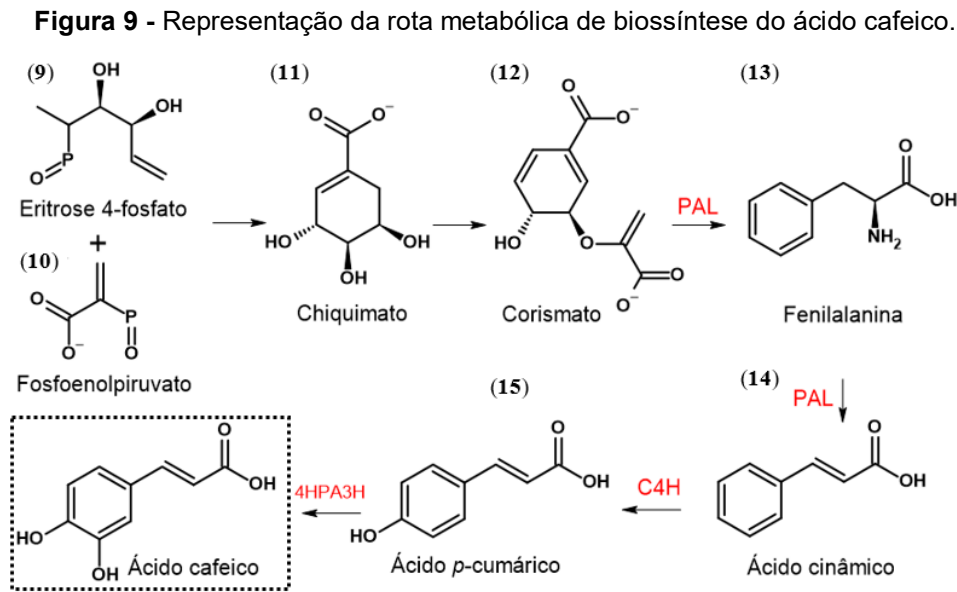
### 3.3.3 Biossíntese do ácido cafeico

As espécies de plantas ricas em ácido cafeico são frequentemente encontradas na medicina popular chinesa, coreana e indiana. Na Coreia e na China, por exemplo, as plantas ricas nesse fenilpropanóide, como *Davallia mariesii* (Davalliaceae), uma espécie de samambaia, são usadas para tratamento de resfriado, câncer de estômago, lombalgia, reumatismo e outros (CUI et al., 1990). Na Índia, o uso de *Carissa spinarum* L. (Apocynaceae) também é comum no tratamento de reumatismo (RAINA et al., 1971). Flores de *Ixora javanica* são muito utilizadas na medicina indiana como agente antitumoral, antisséptico intestinal, sedativo gástrico e adstringente (NAIR; PANIKKAR, 1990).

No reino vegetal, a principal rota metabólica de biossíntese do ácido cafeico e de outros ácidos hidroxicinâmicos em plantas ocorre a partir do corismato (12),

produto da reação entre o fosfoenolpiruvato (PEP) (10) e o eritrose-4-fosfato (E4P) (9) sob catálise enzimática (Figura 9). O corismato é responsável pela formação de aminoácidos importantes na síntese do ácido cafeico, incluindo a fenilalanina (13), sendo que os compostos formados pela via da fenilalanina são denominados fenilpropanóides.

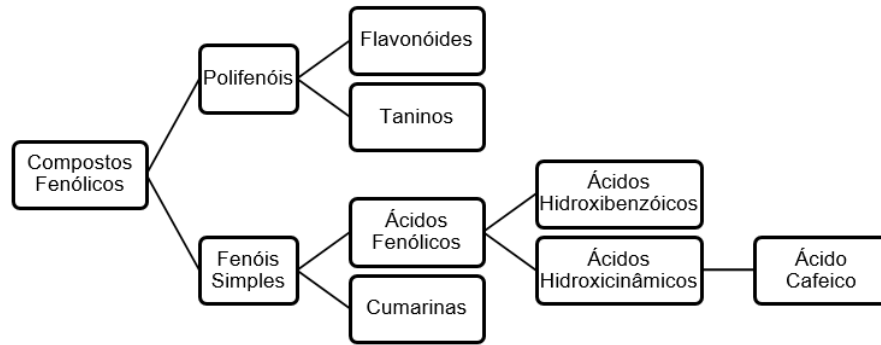
De acordo com Collins (2017), o aminoácido fenilalanina é formado a partir do corismato por uma reação catalisada pela enzima fenilalanina amônia-liase (PAL) (Figura 9). A fenilalanina é convertida à ácido cinâmico (14) pela atuação dessa mesma enzima. A hidroxilação do ácido cinâmico pela enzima cinamato 4-hidroxilase (C4H) transforma-o em ácido *p*-cumárico (15), que é então convertido à ácido cafeico (6) (EL-SEEDI et al., 2012).



### 3.3.4 Compostos fenólicos naturais bioativos

A maioria dos compostos fenólicos são biossintetizados por plantas e foram primeiramente definidas por Bate-Smith, em 1962, e mais tarde por Haslam e Cal (1994). Atualmente, elas possuem diversos arranjos de classificação. Dentre os esquemas de agrupamento existentes, tem-se a divisão em polifenóis e fenóis simples (Figura 10), sendo que o ácido cafeico é classificado como um ácido fenólico.

**Figura 10** - Classificação do ácido cafeico no grupo de compostos fenólicos.

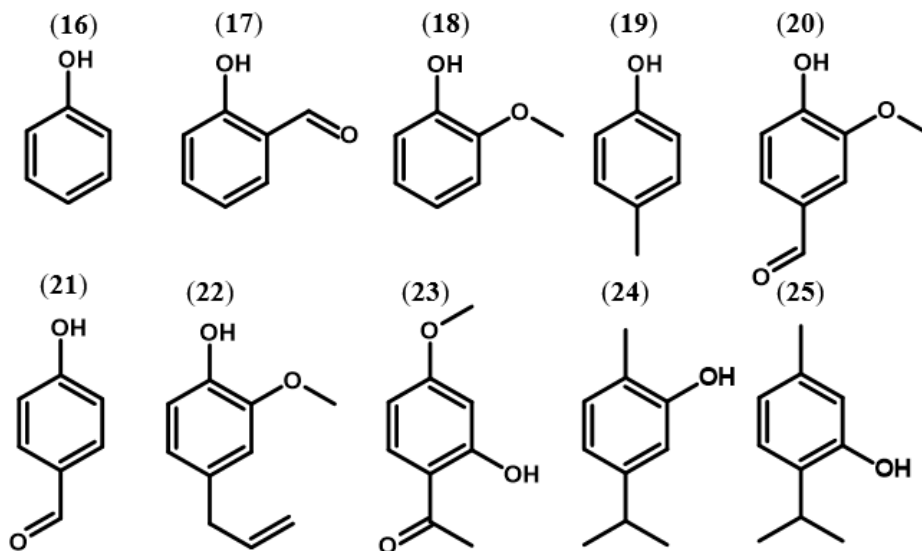


Fonte: Autoria própria (2021).

Os compostos fenólicos, sobretudo ácidos fenólicos, apresentam grupos funcionais farmacologicamente ativos em sua estrutura molecular. Esses componentes farmacofóricos da molécula são capazes de interagir com determinados receptores celulares respondendo à estímulos terapêuticos, além de também serem responsáveis pelas propriedades farmacocinéticas do composto.

Em função disso, muitos ácidos fenólicos, incluindo o ácido cafeico (6), são amplamente estudados pelo seu potencial farmacológico. Outros ácidos fenólicos naturais e compostos análogos, tais como: fenol (16), *o*-salicilaldeído (17), guaiacol (18), *p*-cresol (19), vanilina (20), *p*-salicilaldeído (21), eugenol (22), paeonol (23), carvacrol (24) e timol (25) (Figura 11) foram apontados por Huang, Cai e Zhang (2009) como potenciais agentes na prevenção do câncer.

**Figura 11** - Representação da estrutura química dos compostos fenólicos naturais.



Fonte: Autoria própria (2021).

### 3.4 Estudos de farmacologia *in silico*

#### 3.4.1 O papel da farmacologia *in silico* no planejamento de novos fármacos

A farmacologia *in silico* é relativamente recente em estudos de Pesquisa e Desenvolvimento (P&D) de medicamentos, se comparada às metodologias *in vitro* e *in vivo*, que são abordagens clássicas consolidadas e aceitas pela comunidade científica. Os estudos de farmacologia *in silico* surgiram nos anos de 1970 com a proposta de utilizar métodos computacionais para simular um sistema biológico de um organismo complexo (TERSTAPPEN; REGGIANI, 2001; SANT et al., 2009).

Desse modo, o termo *in silico* é empregado no âmbito da Química Farmacêutica e Medicinal para designar estudos de farmacologia desenvolvidos por meio de ferramentas computacionais de bioinformática e quimioinformática, as quais possibilitam o cálculo das propriedades farmacológicas e toxicológicas de um composto candidato à fármaco, de modo a avaliar o potencial terapêutico dessa substância.

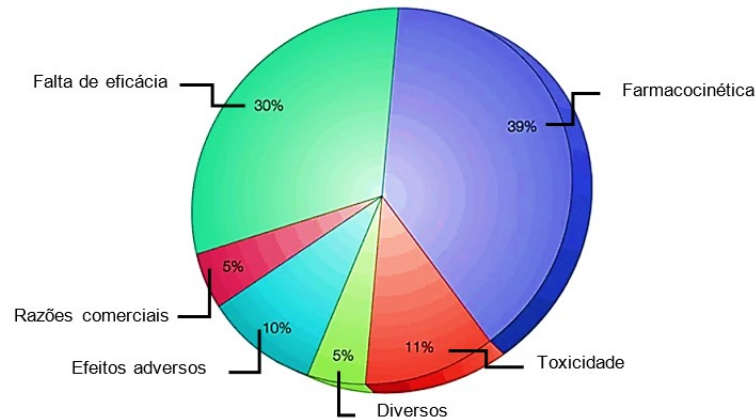
Ressalva-se, como observado por Terstappen e Reggiani (2001), que os estudos de farmacologia *in silico* além de estarem ligados aos avanços da tecnologia computacional, também foram influenciados pelo desenvolvimento da biologia molecular a partir dos anos de 1970, sobretudo das ciências genômicas e proteômicas. Esse quadro de mudanças possibilitou expandir o banco de dados de alvos terapêuticos, como proteínas, enzimas e canais iônicos, os quais tem aumentado continuamente. Os alvos moleculares permitem o desenvolvimento de compostos seletivos para uma determinada doença, por isso são importantes em estudos acerca de novos medicamentos.

Atualmente, a farmacologia *in silico* tem ganhado espaço na P&D de fármacos e desempenha uma função importante na busca por novos medicamentos, principalmente, na triagem de *hits*, que são as substâncias candidatas à fármacos. Isso é fundamental em um processo de P&D otimizado já que implica na redução no número de testes experimentais, diminuindo os custos e o tempo de execução do projeto (LOMBARDINO; LOWE, 2004).

Assim, tal abordagem computacional se torna cada vez mais necessária considerando que a taxa de sucesso de um composto candidato à medicamento passar pela fase pré-clínica e clínica (representadas na Figura 12) sem objeções é

muito baixa (Gráfico 2), no qual metade das falhas estão relacionadas à farmacocinética deficiente e toxicidade animal (GUIDO et al., 2010). Estudos mostram que essas falhas aparecem no estágio final do processo, com o composto já na fase clínica (WATERBEEMD; GIFFORD, 2003).

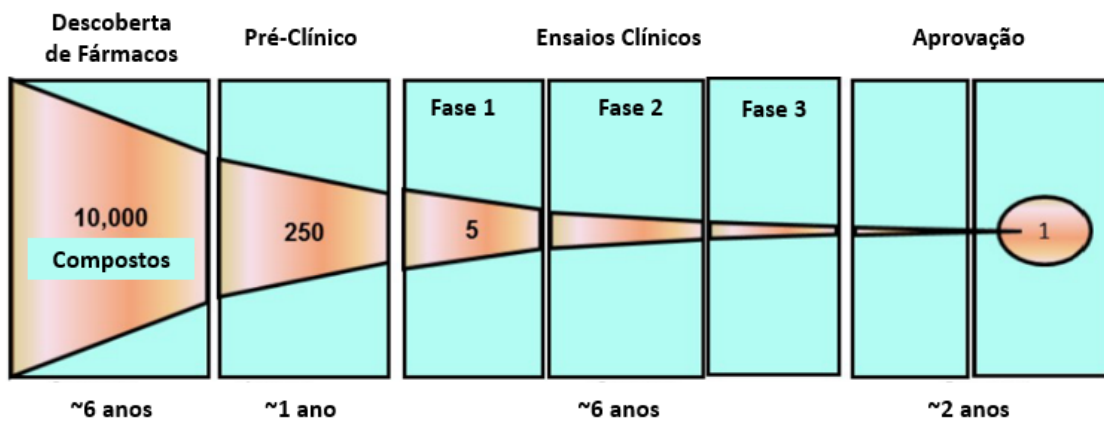
**Gráfico 2** – Principais motivos de falhas no desenvolvimento de medicamentos.



**Fonte:** Adaptado de Waterbeemd e Gifford (2003).

Vale lembrar que a P&D de novos fármacos envolve um processo que demanda tempo (em média cerca de 13 anos) e altos investimentos. Logo, todas as possíveis falhas e contratempos que forem surgindo durante tal processo o deixam ainda mais demorado e caro. Desse modo, a farmacologia *in silico* já na fase inicial do P&D de fármacos é uma alternativa viável para tornar a pesquisa mais rápida e menos dispendiosa que as metodologias clássicas (VANKATESH; LIPPER, 2000).

**Figura 12** - Processo de P&D de novos medicamentos.



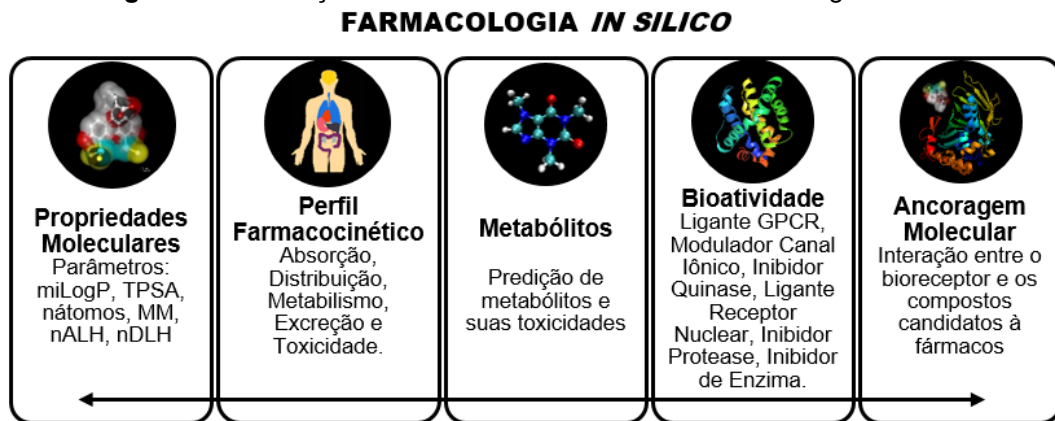
**Fonte:** Adaptado de BRAKE et al. (2017, p. 2).



### 3.4.2 Estudos de farmacologia *in silico*

Os estudos de farmacologia *in silico* podem envolver diversas abordagens no contexto de planejamento e desenvolvimento de novos fármacos. De maneira geral, os diferentes grupos de pesquisa que trabalham com a farmacologia *in silico* avaliam os seguintes fatores para os compostos candidatos à fármacos: as propriedades moleculares e farmacocinéticas, os metabólitos e suas toxicidades, a atividade biológica e a ancoragem molecular (Figura 13).

**Figura 13** - Avaliações envolvidas em um estudo de farmacologia *in silico*.



Fonte: Autoria Própria (2021).

O perfil farmacocinético de um composto candidato à fármaco mostra se o mesmo chegará ou não ao seu órgão-alvo, no qual exercerá seu efeito terapêutico, considerando todo caminho que o medicamento percorre até seu bioreceptor. Ressalva-se que as propriedades farmacocinéticas de um fármaco são essenciais para que a substância produza seu efeito terapêutico, uma vez que, se tal molécula não chegar ao seu bioreceptor, a mesma não desencadeará um efeito farmacológico no organismo.

No final do século XX, o químico medicinal Christopher Lipinski (1997) propôs um algoritmo para prever compostos bioativos propensos a serem administrados por via oral. A relação entre as propriedades moleculares e as propriedades farmacocinéticas (em particular na fase de absorção) de substâncias promissoras, se popularizou por meio dos trabalhos divulgados por Lipinski (1997), em um importante periódico "*Advanced Drug Delivery Reviews*", que é um marco no âmbito da Química Farmacêutica e Medicinal.

Os parâmetros previstos por Lipinski (1997) em seu algoritmo ficaram conhecidos como a “Regra dos 5”, em que: “miLogP (coeficiente de partição octanol-água)  $\leq 5,00$ ; TPSA (área de superfície polar topológica)  $\leq 140 \text{ \AA}^2$ ; MM (massa molar)  $\leq 500 \text{ g.mol}^{-1}$ ; nALH (número de aceptores de ligação de hidrogênio)  $\leq 10$ ; e nDLH (número de doadores de ligação de hidrogênio)  $\leq 5$ ” (GABRIEL et al., 2020, p. 6).

A não-violação desses parâmetros indica que a substância avaliada provavelmente apresentará boa absorção se administrada por via oral. Vale ressaltar que o trabalho de Lipinski (1997) é utilizado ainda hoje em estudos de triagem virtual de compostos bioativos. Recentemente, Sisakht, Mahmoodzadeh e Darabian (2021), buscando identificar potenciais inibidores da principal protease do Sars-CoV-2, empregaram a “Regra dos 5” para triagem computacional das substâncias a fim de selecionar as moléculas mais promissoras.

Ressalva-se, que os critérios de Lipinski (1997) não são suficientes para compreender todo o perfil farmacocinético de substâncias candidatas à fármacos. Diante disso, é necessário um estudo mais abrangente das propriedades farmacocinéticas, que consiste na avaliação de parâmetros relacionados as propriedades ADMET (Absorção, Distribuição, Metabolismo, Excreção e Toxicidade) que são fundamentais no planejamento de novos fármacos.

Ademais, nesta etapa também é importante a predição dos possíveis metabólitos e suas toxicidades, uma vez que estes influenciam no quadro toxicológico de medicamentos (LAGORCE et al., 2017). Assim, o metabolismo de fármacos desempenha uma importante função na farmacocinética de uma substância, como na eliminação de fármacos para impedir que estes compostos permaneçam por tempo indeterminado no nosso corpo. Entende-se por metabolismo de fármacos “reações enzimáticas que biotransformam fármacos e xenobióticos em metabólitos de polaridade crescente, para que sejam excretados pela urina” (PEREIRA, 2007, p. 173).

Por outro lado, o segundo fator avaliado em estudos de farmacologia *in silico* consiste na predição da atividade biológica dos compostos candidatos à fármacos. Nesse processo são analisados os possíveis bioreceptores alvos considerando aqueles mais incidentes na literatura (Ligante GPCR, Modulador Canal Iônico, Inibidor Quinase, Ligante Receptor Nuclear, Inibidor Protease, Inibidor de Enzima).

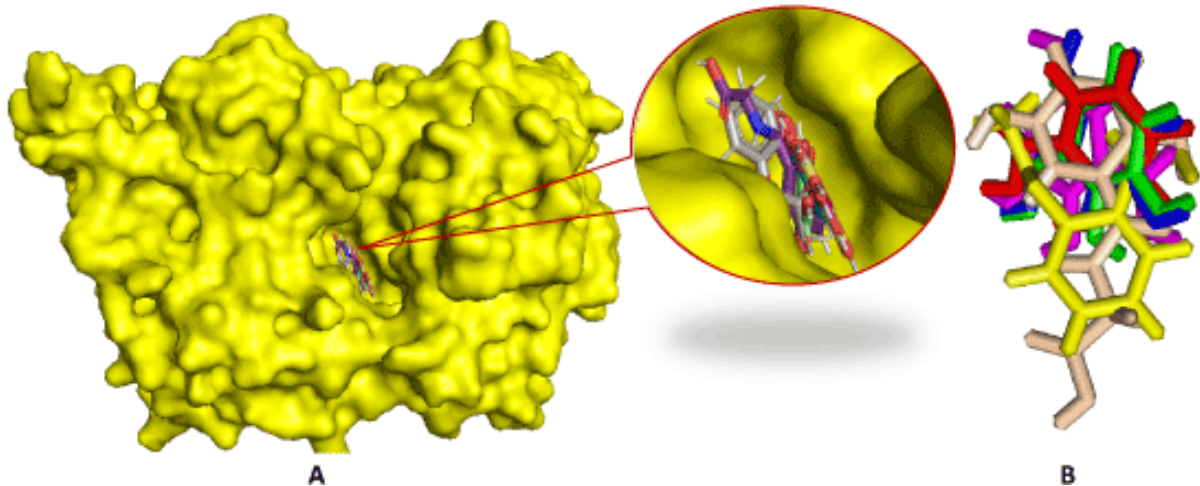
Avaliado os bioreceptores alvos, a próxima etapa consiste no desenvolvimento do estudo de ancoragem molecular, conhecido também como *docking* molecular, no

qual é analisado a interação entre os compostos candidatos à fármaco e um bioreceptor específico, visando avaliar a energia livre de interação entre fármaco-receptor e se o acoplamento acontece no sítio de ligação, ou no sítio alostérico, da biomacromolécula (MORRIS; LIM-WILBY; 2008).

Nesses estudos a orientação e conformação da macromolécula e da micromolécula desempenham um papel fundamental. Geralmente se usa um modelo que mantém a estrutura da macromolécula rígida e varia as conformações da micromolécula e a região mais favorável a interação proteína-ligante (GODÓI et al., 2013).

Na figura 14 é demonstrado o resultado gráfico de um estudo de ancoragem molecular, em que Uzzaman e Mahmud (2020) estudaram a interação entre derivados da aspirina (modificados estruturalmente pelo grupo de pesquisa) e a enzima ciclooxigenase, COX-2. Neste caso (Figura 14), é demonstrado que os compostos interagiram no sítio de ligação do receptor e são potenciais inibidores do dessa enzima.

**Figura 14** - Ancoragem molecular de inibidores da enzima Ciclooxigenase (COX-2).



### 3.4.3 Planejamento racional de fármacos no contexto da farmacologia *in silico*

A farmacologia *in silico* também é uma metodologia importante no planejamento racional de fármacos, e vem sendo utilizada em diferentes trabalhos para otimização de compostos-protótipos pensando em fármacos inovadores.

O planejamento racional de fármacos inclui ferramentas de modificação estrutural que visam moléculas com alta especificidade para um bioreceptor

específico, tornando-a mais eficaz e segura para tratamento de uma doença associada a tal receptor. Dessa forma, a relação entre a estrutura química e a bioatividade é fundamental para que um fármaco exerça efeito terapêutico de forma segura para o paciente (BARREIRO; FRAGA, 2014).

Barreiro e Fraga (2014) destacam que as Estratégias Racionais de Planejamento de Fármacos podem ser por Abordagem Direta, em que a estrutura da biomacromolécula é conhecida, ou por Abordagem Indireta, no qual a estrutura da biomacromolécula é desconhecida, e o composto-protótipo é pensado tendo como base a estrutura do ligante desse receptor biológico. Tanto a via direta quanto a indireta implicam em um composto-protótipo otimizado e ativo farmacologicamente, portanto, é uma substância promissora enquanto candidata à fármaco.

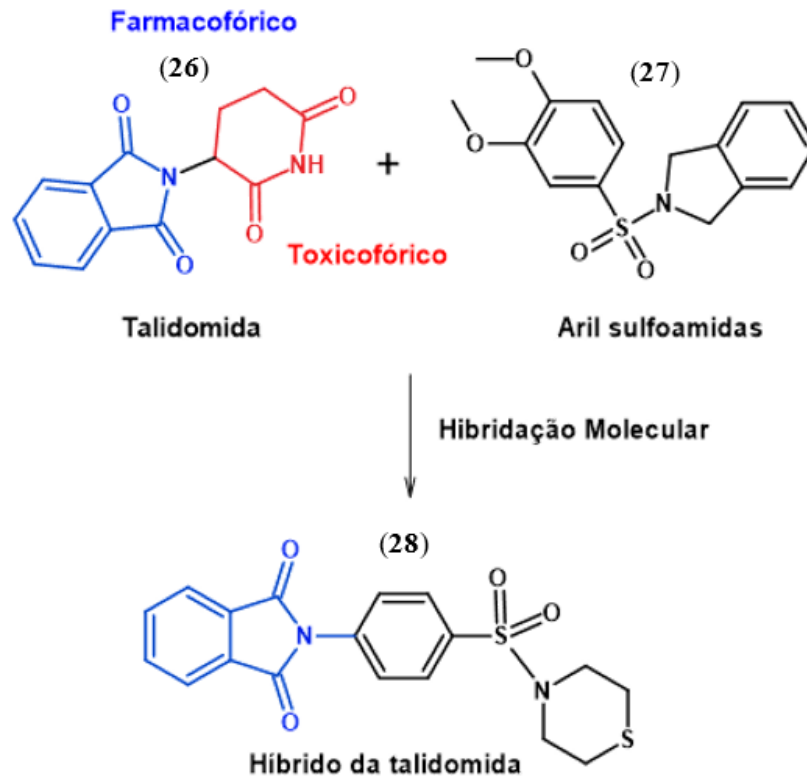
As diferentes estratégias de modelagem e modificação estrutural auxiliam na projeção de compostos-protótipos promissores. Vale destacar a abordagem de hibridação molecular, que consiste na combinação de compostos bioativos a fim de potencializar seus grupos farmacofóricos e substituir os grupamentos toxicofóricos, melhorando as relações entre a estrutura química e a afinidade por um bioreceptor específico. Isso implica em uma melhoria na atividade farmacológica, além de melhores propriedades farmacocinéticas e redução de efeitos colaterais (MORPHY, 2004; BOSQUESI, 2011).

De acordo com Bosquesi (2011, p. 1451), a hibridação molecular está também relacionada ao conceito de “ligantes múltiplos”, isto é:

Aplica-se a drogas que reconhecem mais de um receptor. As vantagens de vários ligantes são sua capacidade: (1) de ativar diferentes alvos por um único molécula, aumentando assim a eficácia terapêutica e (2) para alterar o perfil de biodisponibilidade no célula e ser efetivamente eliminada após exercerem seus efeitos.

Alguns exemplos de fármacos modificados por hibridação molecular é a talidomida (**26**) (LIMA; FRAGA; BARREIRO, 2001) e o ácido acetilsalicílico (LAZZARATO et al., 2011). Na estrutura química da talidomida (Figura 15), o grupamento toxicofórico é glutarimida, que é responsável pelos efeitos teratogênicos; e o farmacofórico, a ftalimida, que possui ação anti-inflamatória. Lima e colaboradores (2002) verificaram que, substituindo os grupamentos farmacofóricos da molécula de talidomida a partir da hibridação molecular com aril sulfoamidas (**27**), o híbrido resultante (**28**) possui atividade antiasmática.

**Figura 15** - Representação de um híbrido da talidomida com atividade antiasmática.



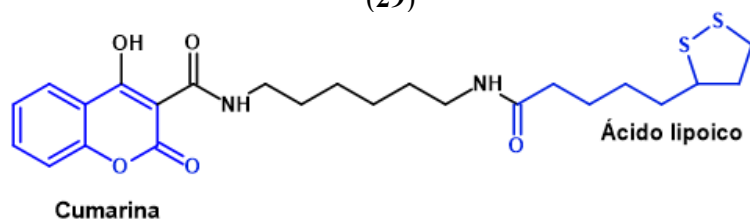
Fonte: Autoria própria (2021).

Já no caso do ácido acetilsalicílico, Lazzarato et al. (2011) incorporaram diferentes cadeias de doadores de NO à estrutura da aspirina para melhorar a atividade do híbrido.

De maneira geral, o grupamento adicionado à estrutura do fármaco de referência (ou a substância bioativa qualquer) é um composto ou grupo sintético. Porém, há também alguns estudos de hibridação molecular utilizando a combinação dos grupos farmacofóricos de produtos naturais, uma vez que eles constituem uma alternativa mais vantajosa devido à sua diversidade estrutural e alvos moleculares (SILVA; EMERY, 2018). Por exemplo, sabe-se que antioxidantes naturais e sintéticos apresentam propriedades anti-inflamatórias (HALLIWELL et al., 1995), como é o caso do ácido lipoico, substância de origem animal. Melagraki et al. (2009), propôs a hibridação do ácido lipoico e a cumarina (que também possui atividade antioxidante e anti-inflamatória) (Figura 16), constatando potencialização no tratamento de inflamações pelo híbrido (29).

**Figura 16** - Representação do híbrido ácido lipoico/cumarina.

(29)



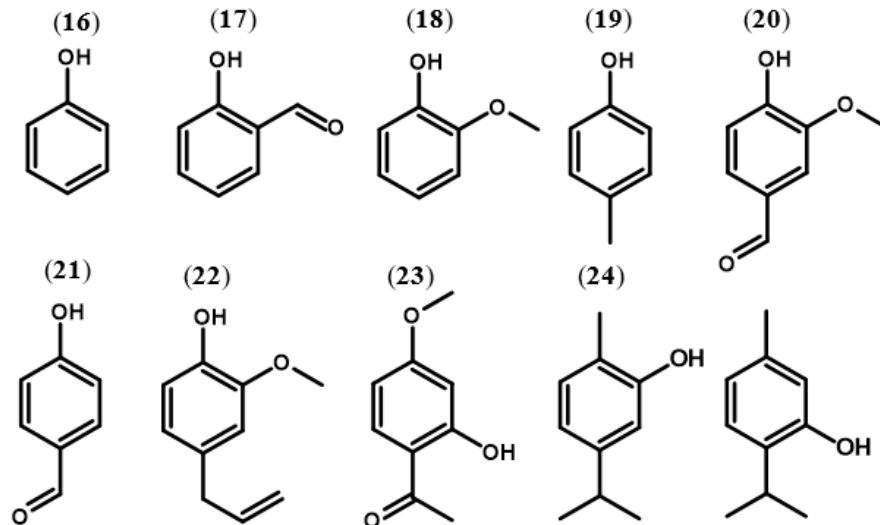
Fonte: Autoria própria (2021).

## 4 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

### 4.1 Hibridação molecular do ácido cafeico com compostos fenólicos naturais

Neste trabalho avaliou-se *in silico* as propriedades farmacocinéticas e o potencial farmacológico de dez cafeatos fenólicos, pensados e modelados a partir da estratégia de hibridação molecular do ácido cafeico (**6**) com alguns dos principais compostos fenólicos bioativos descritos na literatura: fenol (**16**), *o*-salicilaldeído (**17**), guaiacol (**18**), *p*-cresol (**19**), vanilina (**20**), *p*-salicilaldeído (**21**), eugenol (**22**), paeonol (**23**), carvacrol (**24**) e timol (**25**) (Figura 17).

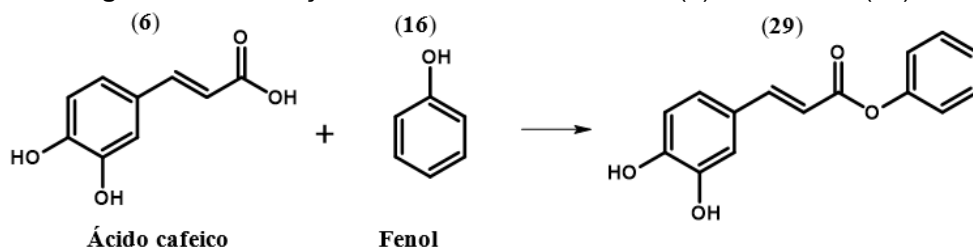
**Figura 17** - Compostos fenólicos bioativos avaliados neste estudo.



Fonte: (Autoria Própria, 2021).

Os cafeatos fenólicos correspondem a ésteres derivados do ácido cafeico com compostos fenólicos, portanto, podem ser obtidos por meio de reações de esterificação, formando os respectivos cafeatos fenólicos (Figura 18).

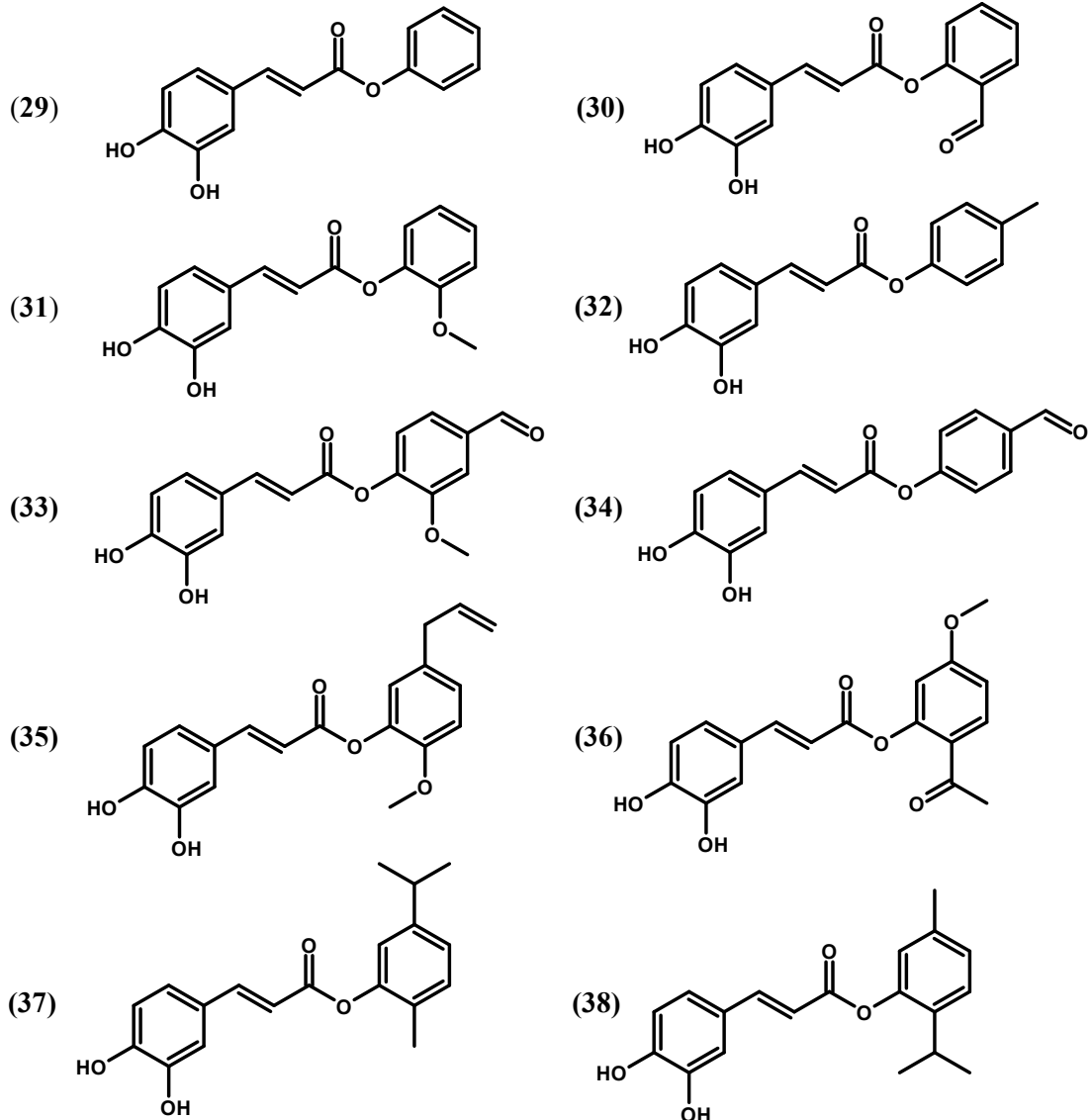
**Figura 18** - Hibridação molecular do ácido cafeico (**6**) com o fenol (**16**).



Fonte: Autoria Própria (2021).

Desse modo, os ésteres idealizados pela estratégia de hibridação molecular e avaliados neste trabalho incluem: cafeato de fenila (**29**), cafeato de *o*-salicilaldeida (**30**), cafeato de guaiacila (**31**), cafeato de *p*-cresila (**32**), cafeato de vanilina (**33**), cafeato de *p*-salicilaldeida (**34**), cafeato de eugenila (**35**), cafeato de paeonila (**36**), cafeato de carvacrila (**37**) e cafeato de timila (**38**) (Figura 19).

**Figura 19** - Representação dos cafeatos fenólicos (**29-38**) avaliados neste trabalho.



Fonte: (Autoria própria, 2021).

## 4.2 Ferramentas computacionais de farmacologia *in silico*

Os estudos *in silico* com os cafeatos fenólicos iniciaram com a predição das propriedades moleculares e bioatividades com objetivo de avaliar a biodisponibilidade oral e os receptores alvos. Em seguida, realizou-se o estudo de ancoragem molecular



para análise das interações entre as substâncias idealizadas e o bioreceptor, visando avaliar o potencial de inibição dos cafeatos fenólicos. Por fim, avaliou-se as propriedades farmacocinéticas, relacionadas a absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade (ADMET), e também os metabólitos e suas toxicidades.

#### 4.2.1 Modelagem das estruturas moleculares

O primeiro *software* utilizado neste trabalho foi o *ACD/ChemSketch* (<https://www.acdlabs.com/resources/freeware/chemsketch/>), mantido pela empresa *ACD/Labs*. Esse programa possibilitou o desenho das estruturas moleculares dos diferentes compostos avaliados neste estudo. Uma função importante desse programa em estudos computacionais é a geração de código *SMILES* (*Simplified Molecular Input Line Entry Specification*) de estruturas moleculares, que são usados como entrada na maioria dos *softwares* e servidores em estudos de farmacologia *in silico*, como por exemplo na predição de propriedades farmacocinéticas e bioatividades. Além disso, por meio do *ACD/ChemSketch* foi possível compilar as moléculas em formatos “.mol”, que é a extensão reconhecida pela maioria dos programas de *docking* molecular, incluindo o *iGEMDOCK*.

#### 4.2.2 Predição das propriedades moleculares e bioatividades

Na avaliação das propriedades moleculares e atividades biológicas foram utilizados o *Molinspiration* (<https://www.molinspiration.com/>) e o *Swiss Target Prediction* (<http://www.swisstargetprediction.ch/>).

O *Molinspiration* é um servidor *online* fundado em 1986 na Universidade de Bratislava, Eslováquia, e atualmente é domínio da empresa *Molinspiration Cheminformatics*, que trabalha com técnicas de quimioinformática voltadas à conexão com a *web*. A partir do *Molinspiration* é possível calcular as propriedades moleculares, como: *miLogP* (coeficiente de partição octanol-água); *TPSA* (área superfície polar topológica); *MM* (massa molar); *nALH* (número de aceptores de ligação de hidrogênio) e *nDLH* (número de doadores de ligação de hidrogênio) e *nrotb* (número de ligações rotativas). A avaliação dessas propriedades é fundamental no estudo de biodisponibilidade oral de candidatos à fármacos. Além disso, a ferramenta permite fazer a predição de bioatividades de compostos.

A probabilidade de uma molécula apresentar bioatividade em um determinado receptor alvo é maior para valores de escore próximos de 0,0. Quando o valor é menor que -5,0 (escore < -5,0), a molécula é inativa, e se ele é maior que 0,0, a molécula é ativa (MOHAN et al., 2017).

No servidor *Swiss Target Prediction*, é possível estimar os potenciais alvo de um composto biologicamente ativo. Esta ferramenta foi desenvolvida pela SIB (*Swiss Institute of Bioinformatics*), com sede na Suíça, a qual atua em uma ampla variedade de ferramentas de quimioinformática.

#### 4.2.3 Estudo de Ancoragem Molecular

O *iGEMDOCK* (<http://gemdock.life.nctu.edu.tw/dock/igemdock.php>) foi utilizado nos estudos de ancoragem molecular junto com o *Chimera UCSF* (<https://www.cgl.ucsf.edu/chimera/>). Vale ressaltar, que esse tipo de abordagem molecular tem crescido no âmbito da pesquisa de novos agentes terapêuticos utilizando a farmacologia *in silico*. A técnica consiste na avaliação da interação de compostos bioativos (micromoléculas) com macromoléculas receptoras (como enzimas, proteínas e canais iônicos) para investigar o potencial de inibição dessas substâncias.

A partir do *iGEMDOCK* avaliou-se a interação entre as substâncias idealizadas neste trabalho (ácido cafeico, compostos fenólicos e cafeatos fenólicos) e um receptor tirosina quinase, depositado no *Protein Data Bank* (PDB: 1AD5) e identificado como potencial alvo pelo *Swiss Target Prediction*.

Atirosina quinase (PDB: 1AD5) foi demonstrada por Sicheri, Moarefi e Kuriyan (1997) pelo método de Difração de Raios-X, sendo constituída por duas cadeias (A e B), apresentado comprimento de 438 aminoácidos, sítio ativo envolto pelos resíduos de aminoácidos Met-341, Glu-339, Leu-393 e Val-281. A resolução dessa enzima quinases é de 2,60 Å e apresenta como ligante cristalográfico o éster adenilato do ácido fosfoaminofosfônico (ANP).

Na *iGEMDOCK*, a enzima tirosina quinase foi compilada utilizando, na seção "*Prepare Binding Site*", a opção "*by bonded ligand*" e um raio de 30,0 Å ao redor da cavidade na qual se encontra ancorado o ligante cristalográfico. Os arquivos com as estruturas moleculares dos ésteres foram indexados no formato ".mol". Os parâmetros foram ajustados para "*Stable docking*", em que a população foi definida como 300, as

gerações como 80 e o número de soluções como 3. As configurações padrões foram mantidas na seção "*Scoring function*".

O *iGEMDOCK* apesar de trabalhar com a simulação gráfica das interações ligante-receptor, a resolução pode ser inviável dependendo da análise. Para tanto, o programa *Chimera UCSF* foi utilizado na simulação gráfica das interações dos compostos com os resíduos de aminoácidos do receptor.

#### 4.2.4 Representação bidimensional das interações entre as micromoléculas e a enzima

Visando gerar uma simulação gráfica em 2D para ajudar na visualização das interações entre as micromoléculas com os resíduos de aminoácidos da enzima, utilizou-se a ferramenta *3DS BIOVIA* (<https://www.3ds.com>), mantida pela empresa francesa *3DS DASSAULT SYSTEMES*, que é voltada para soluções de bioinformática para medicamentos, materiais e fórmulas inovadoras, e fornece diversas ferramentas no planejamento e desenvolvimento de fármacos no contexto de estudos de farmacologia *in silico*.

No *software BIOVIA*, os compostos que demonstram potencial de inibição frente à enzima tirosina quinase (PDB: 1AD5) no estudo de ancoragem molecular, foram carregados juntamente com o receptor quinase para simulação das interações. De acordo com as categorias de software GAMP 5, as soluções da *BIOVIA* se enquadram na categoria 4, software configurável. As soluções da *BIOVIA* foram projetadas para permitir o cumprimento de diferentes regulamentos, como a CFR parte 11 dos EUA e o anexo 11 da UE.

#### 4.2.5 Predição de Propriedades Farmacocinéticas

Para predição das propriedades farmacocinéticas das substâncias utilizou-se o *admetSAR* (<http://lmmd.ecust.edu.cn/admetsar2>), que é um programa *online* de avaliação de propriedades ADMET (absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade) de compostos bioativos. Ele é mantido por pesquisadores da Universidade de Ciência e Tecnologia da China Oriental e tem se apresentado eficaz em estudos computacionais de farmacologia (YANG et al., 2018).

A farmacocinética desempenha um papel fundamental na pesquisa e desenvolvimento de fármacos, uma vez que, além de demonstrar se um fármaco chegará ao órgão-alvo para exercer seu efeito terapêutico, também indica parâmetros relacionados aos processos de absorção, de distribuição e metabolismo no organismo, excreção e toxicidade (como Mutagênese AMES e Carcinogenicidade), sendo importantes na predição do perfil farmacológico de compostos bioativos.

#### 4.6 Predição de metabólitos e suas toxicidades

Na predição dos metabólitos e avaliação de suas toxicidades utilizou-se o servidor *MetaTox* (<http://www.way2drug.com/>), o qual demonstra todos os possíveis metabólitos e também a toxicidade oral aguda e carcinogenicidade dos mesmos. O *MetaTox* é distribuído gratuitamente pelo portal *Way2drug*, mantido por pesquisadores russos do Instituto de Química Biomédica.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Avaliação da bioatividade

A avaliação da atividade biológica para as principais classes de receptores alvos de fármacos (ligante GPCR, modulador canal iônico, inibidor quinase, ligante receptor nuclear, inibidor protease e inibidor de enzimas) mostrou que os cafeatos fenólicos (**29-38**) são moléculas mais promissoras para o modelo de ligante de receptor nuclear, no qual todos os cafeatos apresentaram valores positivos (indicados em vermelho na Tabela 2). Já o ácido cafeico (**6**) e os compostos fenólicos (**16-25**) apresentaram atividade moderada (valores no intervalo -5,0 – 0) para todos os receptores alvos.

Vale ressaltar que, como a expressão de vários de genes é regulada por receptores nucleares, os ligantes que ativam esses receptores podem ter efeitos significativos no organismo. Muitos desses genes estão associados a doenças, o que explica o fato de aproximadamente 13% dos alvos moleculares de medicamentos aprovados pela *Food and Drug Administration* (FDA) dos Estados Unidos serem receptores nucleares (OVERINGTON; AL-LAZIKANI; HOPKINS, 2006). Segundo Sladek (2011), os receptores nucleares estão entre os alvos de medicamentos mais populares para doenças humanas, tais como diabetes (tiazolenedionas), câncer (tamoxifeno), doenças cardíacas (fenofibratos), bem como para o estilo de vida (pílulas anticoncepcionais) e condições comportamentais (esteroides).

**Tabela 2** - Resultado obtido do estudo de predição de bioatividade dos compostos avaliados.

Compostos	Ligante GPCR	Modulador Canal Iônico	Inibidor Quinase	Ligante Receptor Nuclear	Inibidor Protease	Inibidor de Enzima
<b>6</b>	-0,58	-0,14	-1,31	-0,60	-0,72	-0,10
<b>16</b>	-3,47	-3,16	-3,51	-3,25	-3,56	-3,26
<b>17</b>	-2,53	-1,73	-2,38	-2,21	-2,76	-1,83
<b>18</b>	-2,29	-1,63	-2,30	-2,40	-2,62	-1,75
<b>19</b>	-3,15	-2,72	-3,23	-2,94	-3,39	-2,86
<b>20</b>	-1,20	-0,54	-1,13	-0,91	-1,65	-0,64
<b>21</b>	-2,38	-1,51	-2,37	-1,93	-2,80	1,75
<b>22</b>	-0,86	-0,36	-1,14	-0,78	-1,29	-0,41
<b>23</b>	-0,98	-0,58	-1,23	-0,88	-1,21	-0,54
<b>24</b>	-1,02	-0,51	-1,15	-0,70	-1,25	-0,56
<b>25</b>	-1,05	-0,53	-1,29	-0,78	-1,34	-0,57
<b>29</b>	-0,26	-0,12	-0,32	0,02	-0,35	0,00
<b>30</b>	-0,29	-0,20	-0,23	0,09	-0,41	-0,05
<b>31</b>	-0,21	-0,18	-0,22	0,00	-0,31	-0,02
<b>32</b>	-0,27	-0,21	-0,31	0,03	-0,36	-0,06

<b>33</b>	-0,25	-0,19	-0,20	<b>0,11</b>	-0,40	-0,07
<b>34</b>	-0,28	-0,15	-0,25	<b>0,16</b>	-0,42	-0,03
<b>35</b>	-0,15	-0,15	-0,27	<b>0,08</b>	-0,27	-0,02
<b>36</b>	-0,18	-0,25	-0,33	<b>0,07</b>	-0,27	-0,07
<b>37</b>	-0,16	-0,19	-0,23	<b>0,22</b>	-0,24	-0,04
<b>38</b>	-0,17	-0,20	-0,30	<b>0,18</b>	-0,29	-0,05

Fonte: (Autoria Própria).

Alguns receptores nucleares desempenham papel importante na biologia do câncer e são potenciais alvos terapêuticos (LEITE et al., 2012). Desse modo, buscando estimar receptores mais específicos, utilizou-se a ferramenta *Swiss Target Prediction*. Diferente do servidor *Molinspiration*, ela não atua em classes alvo gerais, mas, sim, em domínios específicos de proteínas, nos quais cada molécula pode ou não interagir.

Dessa forma, constatou-se que os cafeatos fenólicos **29**, **34** e **37** são bioativos para receptores com atividade tirosina quinase, podendo ser potenciais inibidores dessas enzimas. Tal alvo já era esperado, posto que a ação anticancerígena do ácido cafeico ocorre mediante inibição desse mesmo receptor (KANG et al., 2009). Além do potencial inibitório de receptores com atividade tirosina quinases, os cafeatos fenólicos também apresentaram como alvo as enzimas amina oxidase, anidrase carbônica (exceto os candidatos **35-38**) e, uma pequena parcela (**31**, **32** e **36**), aldose reductase.

Os resultados do *Swiss Target Prediction* mostraram que esses cafeatos fenólicos têm como alvo tirosina quinases não receptoras (NRTKs), como as codificadas pelo gene Fyn, Yes1 e Lck, e tirosina quinases receptoras (RTKs), como as receptoras do fator de crescimento epidérmico (EGFR).

Vale lembrar, que no organismo humano foram identificadas aproximadamente 520 proteínas quinases e cerca de 10% codificam para receptores tirosina quinase (RTKs). Estas proteínas tem uma função fisiológica importante e são a chave central da comunicação no controle intracelular, regulação e transdução de sinais (SILVA et al., 2009), por isso quando sua atividade é bem regulada o organismo tende a estar saudável. Em células cancerosas, alguns estudos identificaram a superexpressão de tirosina quinases. Assim, essas enzimas são importantes alvos terapêutico visto que a inibição da expressão de tirosina quinases bloqueia a ploriferação, migração e invasão em linhagens celulares de câncer.

Os fármacos aprovados pela FDA para tratamento quimioterápico do câncer têm mecanismo de ação mediante a inibição da atividade enzimática de diferentes tirosinas quinases. Alguns fármacos, por exemplo, atuam competindo com o ligante natural pelo sítio de ligação dessa enzima e são eficientes contra diferentes tipos de câncer. De acordo com Azevedo et al. (2012, 993), “a primeira geração de ITQs [Inibidores de Tirosina Quinases]

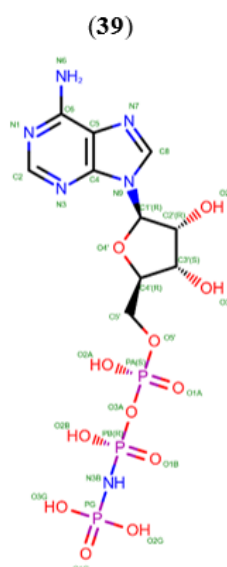
é representada pelo imatinibe (1), a segunda pelo dasatinibe (2) e nilotinibe (3) e a terceira pelo bosutinibe (4) e ponatinibe (5)". Desse modo, os cafeatos fenólicos que apresentaram potencial para interagir em receptores com atividade tirosina quinase são promissores na inibição da atividade enzimática dessa enzima.

É oportuno mencionar que apenas utilizando o *Molinspiration* e o *Swiss Target Prediction* não há respaldo para afirmar se uma molécula inibe ou não a atividade enzimática de uma enzima. Para tanto, é necessário o estudo de *docking* molecular ou ancoragem molecular para analisar a interação receptor-fármaco de um determinado domínio.

## 5.2 Ancoragem molecular: análise da interação receptor-ligante de um domínio tirosina quinase

O ligante cristalográfico ANP (39), representado na Figura 20, do receptor tirosina quinase depositado no *Protein Data Bank* (PDB: 1AD5) mostrou interação no sítio de ligação interagindo com resíduos de aminoácidos Met-341, Glu-339, Leu-393 e Val-281 (SICHERI; MOAREFI; KURIYAN, 1997). A inibição da atividade enzimática é uma consequência das interações intramoleculares dos domínios de homologia Src da enzima SH2 e SH3, com deslocamento concomitante de elementos do domínio catalítico. A conformação do sítio ativo tem semelhanças com a das proteínas quinases dependentes de ciclina inativas.

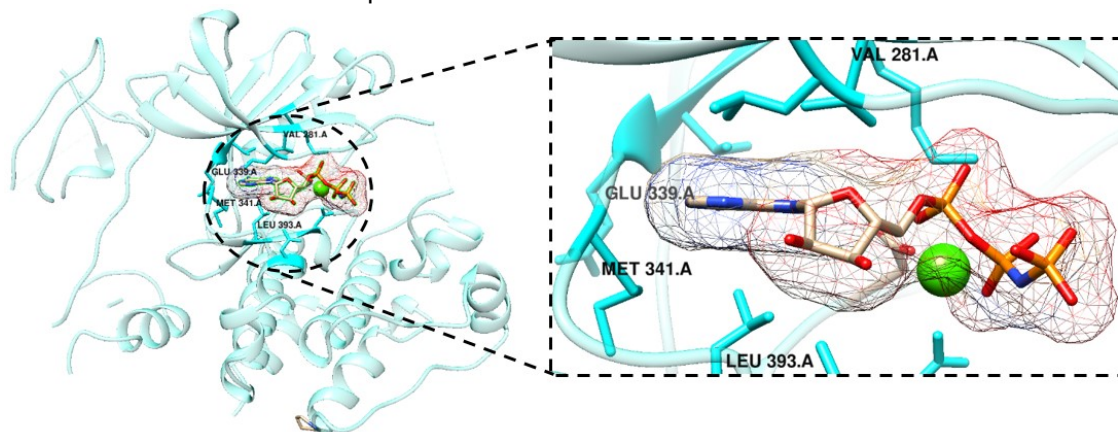
**Figura 20** - Estrutura química do ligante cristalográfico ANP.



Fonte: Protein Data Bank (2021).

O sítio de ligação no qual o ligante cristalográfico está coordenado na proteína, destacado na Figura 21, é delimitado por uma fenda que permite diferentes compostos terem acesso ao sítio ativo desse domínio, podendo ou não inibir sua atividade enzimática.

**Figura 21** - Representação da enzima tirosina quinase (PDB: 1AD5) com o ligante cristalográfico ANP, disponível no servidor *Protein Data Bank*.

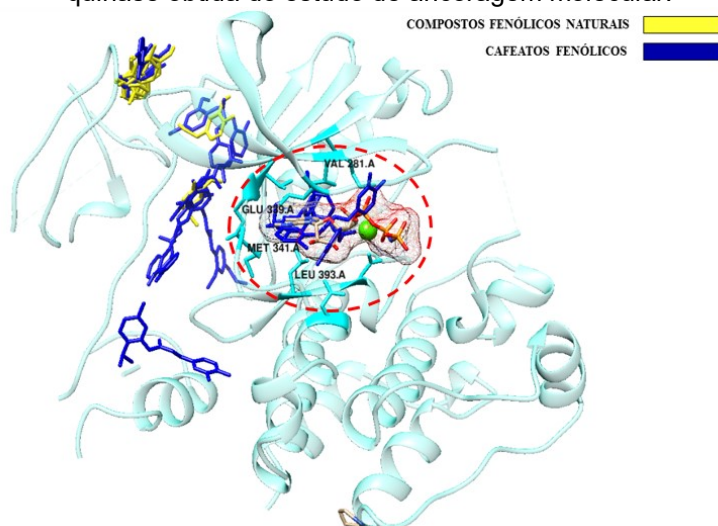


Fonte: (Autoria Própria, 2021).

O estudo de ancoragem molecular desenvolvido no *iGEMDOCK* e visualizado/interpretado no *Chimera* mostrou que os cafeatos fenólicos **29**, **34** e **37** interagiram com resíduos de aminoácidos do sítio de ligação (Met-341, Glu-339, Leu-393 e Val-281) do domínio tirosina quinase (destacado em vermelho na Figura 22), imitando o padrão de ligação do ANP a partir de interações intermoleculares. As demais moléculas (ácido cafeico (**6**), compostos fenólicos (**16-25**) e cafeatos fenólicos (**29-38**) ancoraram-se em regiões variadas não apresentando potencial para inibir a atividade catalítica dessa enzima. Dessa forma, verificou-se que os fenóis (**16-25**) não estão localizados próximo ao sítio ativo da tirosina quinase, portanto, não devem apresentar potencial de inibição para esse domínio. O mesmo ocorreu para alguns dos cafeatos fenólicos, excetuando-se os compostos **29**, **34** e **37** cuja interação foi em seu sítio de ligação, indicando que têm potencial para inibir a proteína em questão.



**Figura 22** - Representação da interação dos cafeatos fenólicos e de seus precursores com domínio tirosina quinase obtida do estudo de ancoragem molecular.



Fonte: Autoria Própria (2021).

A interação dos compostos com o receptor ativo para tirosina quinase foi considerada estável, conforme o estudo de ancoragem molecular no *iGEMDOCK* mostrou (Tabela 3). Pode-se observar que as interações intermoleculares do tipo van der Waals e ligação de hidrogênio apresentam valores energia livre, em kcal.mol<sup>-1</sup>, mais altas para os cafeatos fenólicos, destacando as moléculas que interagiram no sítio de ligação do domínio tirosina quinase (realçadas em vermelho na Tabela 3). A estrutura química dos cafeatos fenólicos ampliaram o número de interações intermoleculares com o receptor tirosina quinase possibilitando uma interação mais efetiva no sítio ativo.

**Tabela 3** - Energias, em kcal.mol<sup>-1</sup>, obtidas do estudo de ancoragem molecular.

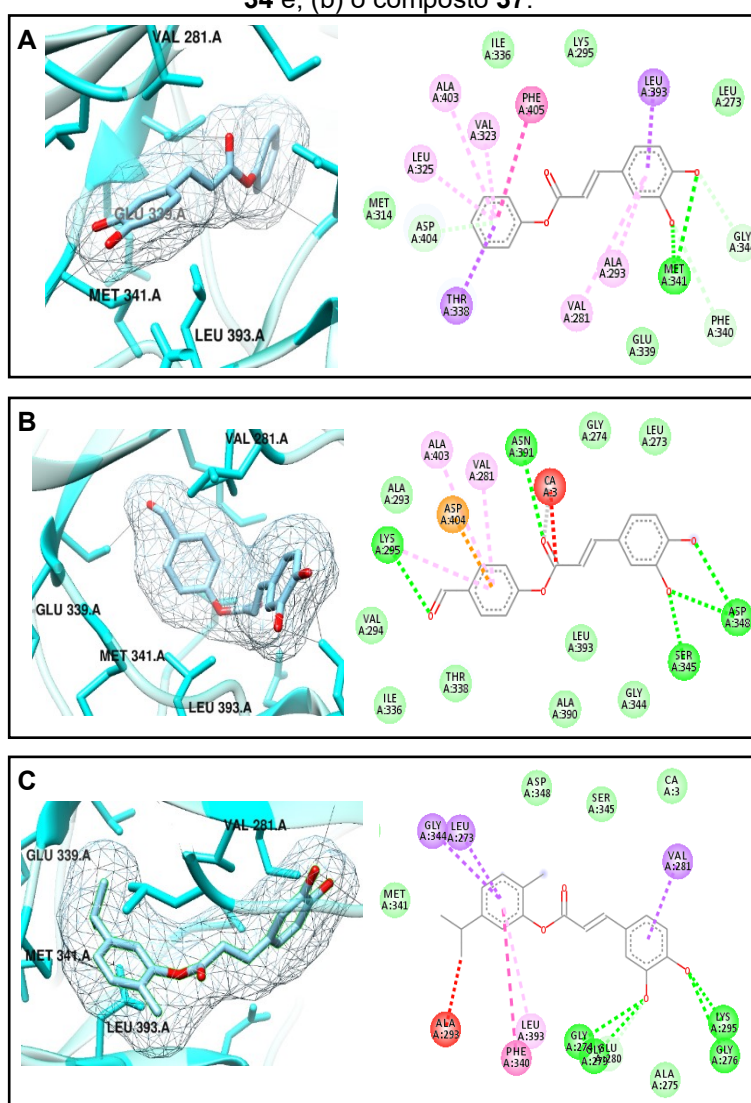
Composto	Energia Total	van der Waals	Ligação de Hidrogênio	Eletrostática
6	-83,17	-55,46	-28,87	1,16
16	-60,12	-48,50	-11,62	0
17	-69,68	-51,66	-18,02	0
18	-70,67	-50,85	-19,82	0
19	-59,21	-45,60	-13,61	0
20	-65,58	-50,96	-14,61	0
21	-59,68	-45,35	-14,32	0
22	-73,13	-52,01	-21,12	0
23	-74,78	-60,11	-14,67	0
24	-69,43	-59,16	-10,27	0
25	-69,82	-59,82	-9,99	0
<b>29</b>	<b>-99,20</b>	<b>-83,92</b>	<b>-15,28</b>	<b>0</b>
30	-91,60	-80,54	-11,06	0
31	-95,30	-75,07	-20,23	0
32	-107,80	-89,68	-18,13	0
33	-103,43	-75,75	-27,68	0
<b>34</b>	<b>-88,07</b>	<b>-63,76</b>	<b>-24,31</b>	<b>0</b>
35	-100,70	-77,3	-23,4	0
36	-120,53	-95,76	-24,77	0
<b>37</b>	<b>-99,90</b>	<b>-78,60</b>	<b>-21,29</b>	<b>0</b>
38	-102,29	-82,10	-20,19	0

Fonte: (Autoria Própria, 2021).

A energia, em kcal.mol<sup>-1</sup>, foi -99,20 para composto **29**, -88,07 para o composto **34** e -99,90 para o composto **37**. Segundo esses valores de energia, os compostos **37** e **34** apresentam melhor interação com os resíduos de aminoácidos que envolvem o sítio ativo. No caso, a energia dos três compostos que atuam nesse centro da enzima é constituída majoritariamente por interações hidrofóbicas com os resíduos de aminoácidos Leu-393 e Val-281 e, também, em menor intensidade, por ligações de hidrogênio com os resíduos de aminoácidos Glu-339 e Met-341.

Ademais, verificou-se também que o composto **37** interagiu com os seguintes resíduos de aminoácidos: Met-341, Leu-273, Leu-393, Val-281 e Lys-295; o composto **34**: Leu-273, Met-341, Asp-348, Thr-338, Asn-391, Lys-295, Val-281, Leu-393 e Asp-404; e o compostos **29**: Leu-273, Met-341, Val-281, Thr-338, Asp-404, Leu-393 e Lys-295 (Figura 23).

**Figura 23** - Representação do sítio ativo da tirosina quinase contendo: (a) o composto **29**; (b) o composto **34** e; (b) o composto **37**.

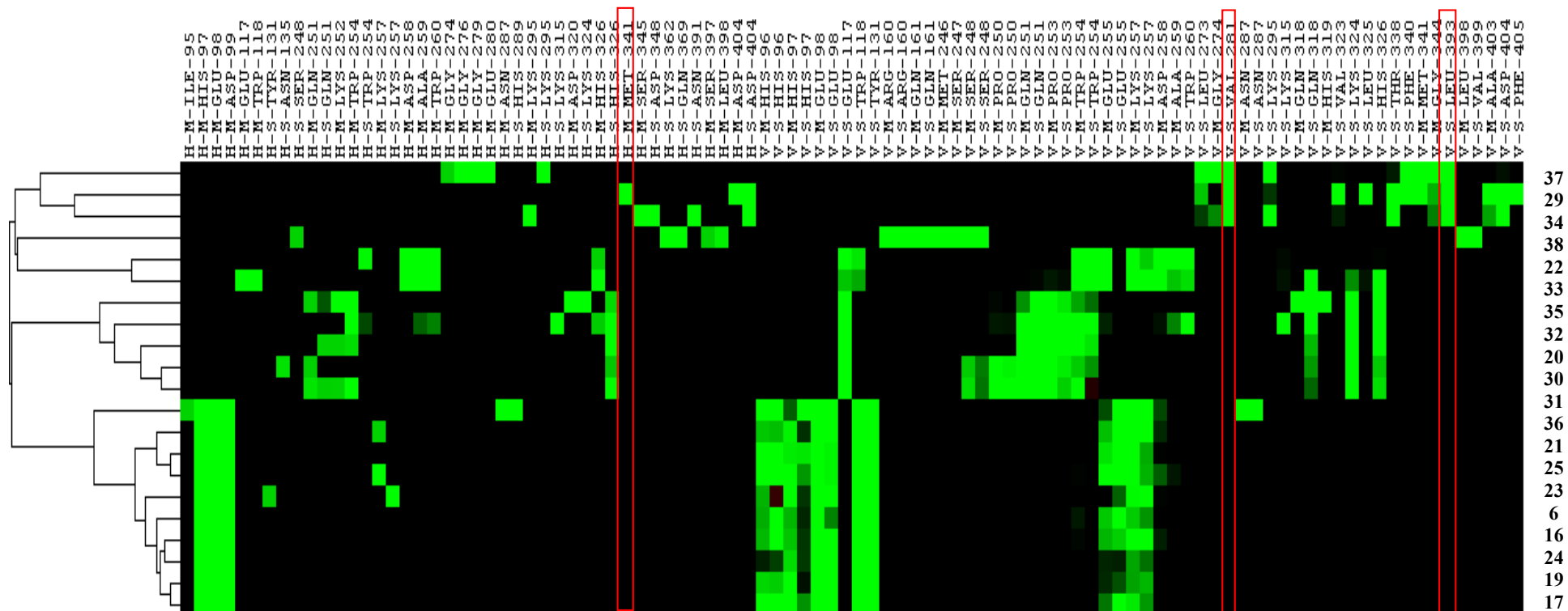


Fonte: (Autoria Própria, 2021).

Por conseguinte, os cafeatos **29** {figura 23(a)}, **34** {figura 23(b)} e **37** {figura 23(c)} competem com o substrato pelo acesso ao centro ativo da tirosina quinase, o que implica na inibição competitiva dessa enzima, impossibilitando sua atividade enzimática.

O dendrograma do estudo de ancoragem molecular (representado na Figura 24), gerado pelo programa *iGEMDOCK*, mostra hierarquicamente a interação de todos os compostos com os resíduos de aminoácidos da tirosina quinase, incluindo aqueles que envolvem o sítio ativo dessa proteína, como é o caso do Met-341, Glu-339, Leu-393 e Val-281. Como pode-se observar, os híbridos **29**, **34** e **37** interagem com os resíduos de aminoácidos mencionados (destacados em vermelho no dendrograma), sendo que tal interação foi melhor para os compostos **29**, **34** e **37**. As demais moléculas ancoraram-se em regiões mais afastadas do sítio ativo, não interagindo com esses resíduos de aminoácidos.

**Figura 24** - Agrupamento hierárquico das interações dos compostos avaliados com os resíduos de aminoácidos da proteína tirosina quinase (em destaque estão os resíduos de aminoácidos de seu sítio ativo).



Fonte: Autoria Própria (2021).

### 5.3 Propriedades moleculares e propriedades farmacocinéticas

Baseado nos resultados obtidos utilizando a ferramenta *Molinspiration* (Tabela 4), pode-se observar que os compostos **6** e **16-25** (ácido cafeico e fenóis) e **29-38** (cafeatos fenólicos) apresentaram propriedades moleculares consideravelmente diferentes, sendo que estes últimos (destacados em vermelho na tabela) tiveram valores mais adequados com os de fármacos comercializados atualmente e que são administrados por via oral.

O objetivo da hibridação molecular foi adicionar compostos fenólicos à estrutura do ácido cafeico, formando os ésteres idealizados **29-38**, cujas propriedades moleculares se espera ser mais significativa do que as dos precursores, o que foi condizente com os valores auferidos (Tabela 4). Tal modificação também refletiu na farmacocinética e na ancoragem molecular, como será abordado na sequência.

**Tabela 4** - Valores de propriedades moleculares, calculadas na ferramenta Molinspiration, dos compostos avaliados.

Composto	miLogP	TPSA	nátomos	MM	nALH	nDLH	nviolações	nrotb	volume
<b>6</b>	0,94	77,75	13	180,16	4	3	0	2	154,50
<b>16</b>	1,46	20,23	7	94,11	1	1	0	0	92,06
<b>17</b>	1,67	37,30	9	122,12	2	1	0	1	111,05
<b>18</b>	1,30	29,46	9	124,14	2	1	0	1	117,61
<b>19</b>	1,91	20,23	8	108,14	1	1	0	0	108,62
<b>20</b>	1,07	46,53	11	152,15	3	1	0	2	136,59
<b>21</b>	1,25	37,30	9	122,12	2	1	0	1	111,05
<b>22</b>	2,10	29,46	12	164,20	2	1	0	3	162,14
<b>23</b>	1,81	46,53	12	166,18	3	1	0	2	153,15
<b>24</b>	3,81	20,23	11	150,22	1	1	0	1	158,57
<b>25</b>	3,34	20,23	11	150,22	1	1	0	1	158,57
<b>29</b>	2,66	66,76	19	256,26	4	2	0	4	226,87
<b>30</b>	2,40	83,83	21	284,27	5	2	0	5	245,86
<b>31</b>	2,28	76,00	21	286,28	5	2	0	5	252,42
<b>32</b>	3,11	66,76	20	270,28	4	2	0	4	243,43
<b>33</b>	2,04	93,07	23	314,29	6	2	0	6	271,40
<b>34</b>	2,45	83,83	21	284,27	5	2	0	5	245,86
<b>35</b>	3,08	76,00	24	326,35	5	2	0	7	296,95
<b>36</b>	2,55	93,07	24	328,32	6	2	0	6	287,96
<b>37</b>	4,55	66,76	23	312,37	4	2	0	5	293,38
<b>38</b>	4,08	66,76	23	312,37	4	2	0	5	293,38

Fonte: (Autoria Própria, 2021).

A regra de Lipinski (2001) foi verificada para todos os compostos, na qual nenhum deles apresentou violação aos parâmetros avaliados, isto é, a “Regra dos 5”. Da mesma forma, o número de ligações rotativas foi menor que 10. Desse modo, nenhum composto violou os parâmetros de Lipinski (2001) e Veber et al. (2002), portanto, as suas propriedades moleculares indicam que é improvável que tais substâncias tenham má absorção ou permeação se administrados por via oral, logo terão biodisponibilidade por essa via.

As propriedades farmacocinéticas, apresentadas na Tabela 5, de absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade dos compostos avaliados neste estudo foram adequadas para maioria das substâncias.

**Tabela 5** - Resultados de propriedades farmacocinéticas (absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade) dos compostos avaliados neste trabalho, calculados na ferramenta admetSAR.

PARÂMETROS		COMPOSTOS																				
		6	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38
Absorção	Caco-2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+
	Barreira hematoencefalica	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-	+	+	+
	Inibidor da glicoproteína-P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Substrato de glicoproteína-P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Metabolização	Substrato CYP3A4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
	Substrato CYP2C9	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
	Substrato CYP2D6	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Inibição do CYP3A4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Inibição do CYP2C9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	+	+
	Inibição do CYP2C19	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Inibição do CYP2D6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Inibição do CYP1A2	-	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-	+	+
Toxicidade	Carcinogenicidade	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Mutagênese (AMES)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Hepatotoxicidade	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Genotoxicidade (Micronúcleos)	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Toxicidade Oral Aguda	IV	II	III	III	II	III	III	III	III	III	III	III	III	III	IV	III	III	III	III	III	III

A toxicidade oral aguda foi classificada com base nas quatro classes da Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos, divididas em categorias de acordo com a dose letal mediana (LD<sub>50</sub>): **Categoria I:** LD<sub>50</sub> < 50 mg/kg; **Categoria II:** 50 mg/kg ≤ LD<sub>50</sub> ≤ 500 mg/kg; **Categoria III:** 500 mg/kg ≤ LD<sub>50</sub> ≤ 5000 mg/kg; **Categoria IV:** 5000 mg/kg ≤ LD<sub>50</sub>.

Fonte: (Autoria Própria).

As células Caco-2 constituem um parâmetro importante de absorção de fármacos no intestino, assim, se a magnitude de permeabilidade dos compostos a essas células for baixa, é improvável a absorção efetiva da molécula (YEE, 1997). Os compostos **30**, **34** e **35** não permeiam células Caco-2, portanto, é provável que não sejam absorvidos pelo estômago, impossibilitando serem administrado por via oral – os demais candidatos apresentaram valores positivos para este parâmetro, segundo a Tabela 4; dessa forma não terão problemas de absorção.

As moléculas substratos da Glicoproteína-P diminuem sua magnitude de permeabilidade de células Caco-2, dessa forma elas interferem na fase de absorção (LIN; YAMAZAKI, 2003). As substâncias avaliadas não são substratos da Glicoproteína-P, nem mesmo inibidores (Tabela 5), portanto os resultados indicam boa permeabilidade para maioria dos candidatos, excetuando-se os compostos **30**, **34** e **35**. Ainda, os compostos **34** e **35**, junto com as moléculas **6**, **29** e **32**, apresentaram resultados negativos de permeabilidade à barreira hematoencefálica. Porém, como a atividade biológica não está em exercer efeito terapêutico no sistema nervoso central, a permeabilidade à barreira hematoencefálica é um critério que não irá influenciar na farmacocinética dos compostos avaliados neste trabalho.

Em relação aos citocromos P450, de acordo com a Tabela 5, os seguintes cafeatos fenólicos devem inibir isoformas da proteína P450 (CYP2C9 e CYP1A2): **30**, **31**, **32**, **33**, **35**, **37** e **38**, o que não é favorável para o organismo, pois são proteínas envolvidas na biotransformação que participa da detoxificação de substâncias endógenas e exógenas. Dessa maneira, a inibição de isoformas de CYP450 minimiza o sistema de defesa contra agentes químicos. Entretanto, o bloqueio de somente duas isoformas de CYP450 é insustentável para avaliar sua nocividade para o organismo (o mesmo ocorre para as moléculas precursoras dos cafeatos fenólicos).

Considerando os parâmetros de toxicidade, a toxicidade oral aguda para os compostos **6** e **31** foi classificada na categoria IV ( $5000 \text{ mg/kg} \leq \text{LD}_{50}$ ) e para o demais compostos – excetuando-se os compostos **16** e **19**, classificados na II ( $50 \text{ mg/kg} \leq \text{LD}_{50} \leq 500 \text{ mg/kg}$ ) –, foi III ( $500 \text{ mg/kg} \leq \text{LD}_{50} \leq 5000 \text{ mg/kg}$ ). A derivação de **16** e **19** aos seus respectivos ésteres (**29** e **32**) reduziu a toxicidade dos mesmos para a categoria III.

Todos os compostos avaliados apresentaram resultados negativos para o modelo de carcinogenicidade e mutagênese (teste AMES), sendo que o *p*-cresol (**19**) apontou valor positivo para carcinogenicidade, entretanto seu derivado (**32**) não é



carcinógeno, conforme a Tabela 5. Para a genotoxicidade foi observado que todos os cafeatos fenólicos (**29-38**) apresentaram valores positivos, entretanto, como os parâmetros avaliados anteriormente mostraram, tais compostos não devem ser carcinogênicos, mutagênicos ou teratogênicos. O mesmo ocorreu para hepatotoxicidade, em que os cafeatos fenólicos demonstraram toxicidade hepática, mas tal critério depende de fatores para uma avaliação mais segura, como a dosagem a ser administrada, a frequência de uso da substância, o histórico clínico do paciente, etc.

Dessa maneira, a baixa toxicidade e os resultados negativos de carcinogenicidade e mutagênese dos cafeatos fenólicos demonstram, *in silico*, que essas substâncias não devem ser nocivas para o organismo, mas é necessário estudos de hepatotoxicidade mais abrangentes para afirmar sobre tal parâmetro. De modo geral, os resultados foram favoráveis ao considerar as moléculas em estudo enquanto possíveis candidatas à fármacos.

Assim, grande parte dos compostos apresentaram absorção apropriada e baixa toxicidade, com exceção dos compostos **30**, **34** e **35**, que não permeiam células Caco-2, mas que ainda podem ser absorvidos pelo intestino, e dos compostos **6**, **29** e **32**, **34** e **35** que não permeiam a barreira hematoencefálica.

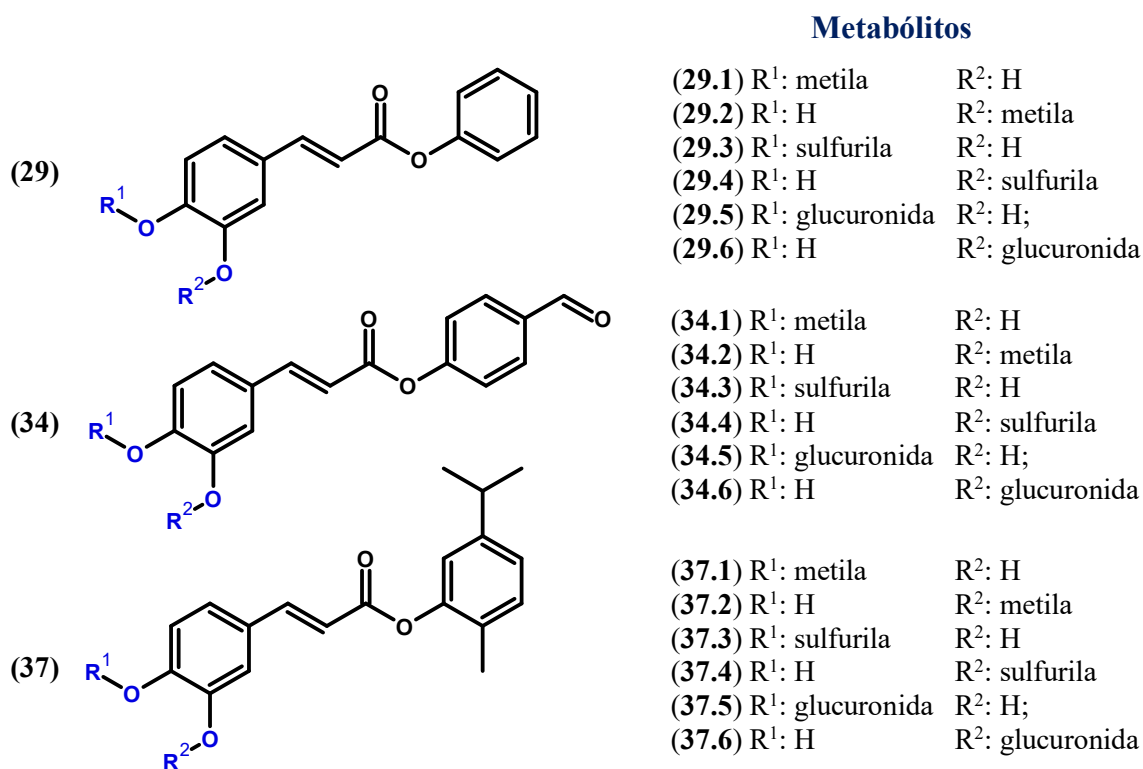
#### **5.4 Predição de metabólitos e suas toxicidades**

A predição dos metabólitos e os respectivos valores de toxicidade foram auferidos para os cafeatos fenólicos com potencial terapêutico, isto é, para os compostos que se acoplaram no sítio atividade da enzima tirosina (PDB: 1AD5) no estudo de *docking* molecular e, portanto, são possíveis inibidores desse bioreceptor. Assim, nessa análise incluímos os seguintes compostos: cafeato de fenila (**29**), cafeato de *p*-salicilaldeila (**34**) e cafeato de carvacrila (**37**). Ressalva-se, que o estudo da toxicidade dos metabólitos bioformados desempenham papel importante na avaliação da farmacocinética.

Desse modo, o *MetaTox* determinou seis possíveis metabólitos para cada cafeato fenólico avaliado, obtidos por reações de metilação, sulfuração e glucuronidação nas hidroxilas do anel benzênico do ácido cafeico originando os respectivos metabólitos – cuja estrutura química está representada na Figura 25.

Assim, para os seis metabólitos (**29.1** a **29.6**) do cafeato de fenila (**29**), tem-se: (**29.1**)  $R^1 = \text{metila}$  e  $R^2 = \text{H}$ ; (**29.2**)  $R^1 = \text{H}$  e  $R^2 = \text{metila}$ ; (**29.3**)  $R^1 = \text{sulfurila}$  e  $R^2 = \text{H}$ ; (**29.4**)  $R^1 = \text{H}$  e  $R^2 = \text{sulfurila}$ ; (**29.5**)  $R^1 = \text{glucuronida}$  e  $R^2 = \text{H}$ ; (**29.6**)  $R^1 = \text{H}$  e  $R^2 = \text{glucuronida}$ . Analogamente, têm-se as estruturas dos metabólitos do cafeato de *p*-salicilaldeila (**34**) e do cafeato de carvacrila (**37**), conforme é indicado na figura abaixo.

**Figura 25** - Representação do cafeato de fenila (**29**), cafeato de salicilaldeila (**34**) e cafeato de carvacrila (**37**) indicando os pontos de metabolização ( $R^1$  e  $R^2$ ).



**Fonte:** (Autoria Própria, 2021).

Dentre os cafeatos fenólicos em estudo, o cafeato de carvacrila (**37**) formou os metabólitos mais tóxicos (Tabela 6), principalmente aqueles que são produtos da metilação dos radicais OH, como é o caso dos compostos **37.1** e **37.2**. Mesmo assim, a toxicidade oral aguda deles está dentro do padrão (Categoria III,  $500 \text{ mg/kg} \leq \text{LD}_{50} \leq 5000 \text{ mg/kg}$ ) e não é nociva ao organismo. Os cafeatos de fenila (**29**) e salicilaldeila (**34**) formaram metabólitos cuja toxicidade foi ainda menor que a do cafeato de carvacrila. Portanto, os metabólitos derivados dos cafeatos fenólicos demonstraram não apresentar toxicidade ao ser humano, logo não devem ser nocivos ao organismo.

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 6, é observado também que nenhum metabólito em questão apresentou valores positivos para os parâmetros

de carcinogenicidade e mutagênese (AMES), dessa forma, embora tais metabólitos possam ser genotóxicos pela simulação do teste de micronúcleos, a genotoxicidade não indica necessariamente que serão carcinogênicos, mutagênicos ou teratogênicos. Vale ressaltar, que todos os metabólitos (excetuando-se o **37.1** e **37.2**) apresentaram hepatotoxicidade, isto é, podem causar dano ao fígado, de modo que isso pode se manifestar como uma reação colateral indesejável, “o que poderá limitar seu uso e os benefícios esperados” (BERTOLAMI, 2005, p. 25).

**Tabela 6** - Toxicidade oral aguda dos metabólitos dos cafeatos fenólicos avaliados.

Metabólitos	TOXICIDADE				
	Toxicidade Oral Aguda (g/kg)	Carcinogenicidade	Mutagênese (AMES)	Genotoxicidade (Micronúcleos)	Hepatotoxicidade
29.1	1,182	-	-	+	+
29.2	1,193	-	-	+	+
29.3	4,204	-	-	+	+
29.4	4,234	-	-	+	+
29.5	6,395	-	-	+	+
29.6	6,336	-	-	+	+
34.1	2,336	-	-	+	+
34.2	2,320	-	-	+	+
34.3	5,451	-	-	+	+
34.4	5,489	-	-	+	+
34.5	8,474	-	-	+	+
34.6	8,416	-	-	+	+
37.1	0,556	-	-	-	+
37.2	0,560	-	-	-	+
37.3	2,326	-	-	+	+
37.4	2,237	-	-	+	+
37.5	8,930	-	-	+	+
37.6	8,868	-	-	+	+

Fonte: (Autoria própria, 2021).

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Baseado nos resultados obtidos com a predição de atividades biológicas, os cafeatos fenólicos apresentaram bioatividade para a classe Ligante de Receptor Nuclear, a qual constitui um importante alvo de medicamentos por estar associada à diversas doenças. Com avaliação mais específica no *Swiss Target Prediction*, identificou-se que os compostos avaliados são potenciais inibidores de receptores tirosinas quinases, que desempenham papel importante na biologia do câncer e, por isso, são alvos terapêuticos de diferentes antineoplásicos aprovados pela FDA e utilizados na quimioterapia oncológica.

O potencial de inibição de enzimas tirosina quinases foi confirmado também pelo estudo de ancoragem molecular no *software iGEMDOCK*, sendo que cafeatos fenólicos **29**, **34** e **37** acoplaram-se no sítio de ligação do domínio quinase mediante interação com os resíduos de aminoácidos Leu-393, Val-281, Glu-339 e Met-341, competindo com o substrato pelo sítio ativo, logo, podem inibir a atividade enzimática dessa enzima. No contexto da quimioterapia oncológica, a inibição de tirosina quinases é uma estratégia importante para suprimir o avanço de células cancerosas.

Por outro lado, o estudo de *docking* molecular demonstrou que os demais compostos (incluindo o ácido cafeico, os compostos fenólicos e alguns cafeatos fenólicos) ancoraram-se em regiões afastadas do sítio de ligação das enzimas tirosinas quinases não receptoras, assim tais substância não devem inibir a atividade dessa enzima e, portanto, não terão efeito terapêutico em células cancerosas, embora ainda possam apresentar atividade farmacológica para outros receptores biológicos.

Além disso, as diferentes substâncias avaliadas neste estudo apresentaram propriedades moleculares e farmacocinéticas adequadas para candidatos à fármacos, de modo que os valores de toxicidade estão dentro do intervalo aceito para candidatos à fármacos (Categoria III), incluindo também a toxicidade dos metabólitos, e apresentaram resultados negativos para o modelo de carcinogenicidade e mutagênese (teste AMES), exceto o *p*-cresol (**19**) que apontou valor positivo para carcinogenicidade.

Referente a absorção, nenhum dos compostos violou a “Regra dos 5” de Lipinski (1997), portanto devem possuir boa biodisponibilidade oral; e também demonstraram valores positivos para permeabilidade em células Caco-2 e não são substratos ou inibidores de Glicoproteína-P, logo, é provável que tenham boa

absorção se administrado por via oral. Considerando as vantagens dessa via de administração, é importante que um fármaco tenha essa biodisponibilidade.

Em relação a inibição das diferentes isoformas do citocromo P450, somente algumas moléculas mostraram valores positivos para inibição de determinadas isoformas. Entretanto, dentre os compostos mais promissores (**29**, **34** e **37**), somente o cafeato de carvacrila (**37**) inibe duas isoformas do citocromo P450, o que constitui uma desvantagem para organismo, já que tais proteínas são responsáveis pela defesa do organismo contra xenobióticos. Contudo, o bloqueio de somente duas isoformas de CYP450 é insustentável para avaliar sua nocividade para o organismo (o mesmo ocorre para as moléculas precursoras dos cafeatos fenólicos).

Os resultados obtidos neste estudo demonstram o início ao complexo e demorado processo de planejamento de um fármaco para o tratamento do câncer. Os compostos apresentaram boas propriedades ADMET e uma favorável interação com a enzima tirosina quinase no estudo de ancoragem molecular. Ademais, os resultados mostram a necessidade mais estudos computacionais para se confirmar os resultados, em particular novos estudos de ancoragem molecular por modelos mais dinâmicos para resultados mais precisos.

Nesse sentido, o trabalho poderá ser continuado com a síntese dos cafeatos fenólicos propostos, realização de estudos *in vitro* para se avaliar o potencial de inibição de tirosina quinases e, a partir de resultados favoráveis, seguido de estudos *in vivo*.

## REFERÊNCIAS

- ABOTALEB, M. et al. Therapeutic potential of plant phenolic acids in the treatment of cancer. **Biomolecules**, v. 10, n. 2, p. 221, 2020.
- ALSON, S. G. et al. In-vitro and in-vivo antimalarial activity of caffeic acid and some of its derivatives. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 70, n. 10, p. 1349-1356, 2018.
- ARMUTCU, F. et al. Therapeutic potential of caffeic acid phenethyl ester and its anti-inflammatory and immunomodulatory effects. **Experimental and Therapeutic Medicine**, v. 9, n. 5, p. 1582-1588, 2015.
- AZEVEDO, L. D. et al. Sínteses e propriedades de fármacos inibidores da tirosina quinase BCR-ABL, utilizados no tratamento da leucemia mieloide crônica. **Química Nova**, v. 40, n. 7, p. 791-809, 2017.
- BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. **Química Medicinal: As bases moleculares da ação dos fármacos**. Artmed Editora, 2014.
- BATE-SMITH, E. C. The phenolic constituents of plants and their taxonomic significance. I. Dicotyledons. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 58, n. 371, p. 95-173, 1962.
- BERTOLAMI, M. C. Mecanismos de hepatotoxicidade. **Arquivos brasileiros de cardiologia**, v. 85, p. 25-27, 2005.
- BOSQUESI, P. L. et al. Anti-inflammatory drug design using a molecular hybridization approach. **Pharmaceuticals**, v. 4, n. 11, p. 1450-1474, 2011.
- BRAKE, K. et al. In vivo studies for drug development via oral delivery: challenges, animal models and techniques. **Pharmaceutica Analytica Acta**, v. 8, n. 9, p. 1-11, 2017.
- CHAO, P. C.; HSU, C. C.; YIN, M. C. Anti-inflammatory and anti-coagulatory activities of caffeic acid and ellagic acid in cardiac tissue of diabetic mice. **Nutrition & Metabolism**, v. 6, n. 1, p. 1-8, 2009.
- COHEN, P. Protein kinases - the major drug targets of the twenty-first century?. **Nature reviews Drug discovery**, v. 1, n. 4, p. 309-315, 2002.
- COLLINS, H. R. **Caffeic Acid**. Hauppauge: Nova Science Publishers, Inc, 2017. Disponível em: <<http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=e000xww&AN=1455166&lang=pt-br&site=eds-live&scope=site>>. Acesso em: 22 abril de 2021.
- CUI, C. B. et al. Constituents of a fern, *Davallia mariesii* Moore. I. Isolation and structures of davallialactone and a new flavanone glucuronide. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 38, n. 12, p. 3218-3225, 1990.

DALLAVALLE, Sabrina et al. Melhoria dos medicamentos anticâncológicos convencionais como novas ferramentas contra tumores resistentes a multidrogas. **Atualizações de Resistência a Drogas**, v. 50, p. 100682, 2020.

DICKENS, E.; AHMED, S. Principles of cancer treatment by chemotherapy. **Surgery (Oxford)**, v. 36, n. 3, p. 134-138, 2018.

EL-SEEDI, H. R. et al. Biosynthesis, natural sources, dietary intake, pharmacokinetic properties, and biological activities of hydroxycinnamic acids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 44, p. 10877-10895, 2012.

FERIOTTO, G. et al. Caffeic acid enhances the anti-leukemic effect of imatinib on chronic myeloid leukemia cells and triggers apoptosis in cells sensitive and resistant to imatinib. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 4, p. 1644, 2021.

GABRIEL, B. P. et al. Propriedades farmacocinéticas e potencial de inibição de tirosina quinase de cafeatos fenólicos. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 1, p. e188911890-e188911890, 2020.

GHOSH, S.; MARROCCO, I.; YARDEN, Y. Roles for receptor tyrosine kinases in tumor progression and implications for cancer treatment. **Adv. Cancer Res**, v. 147, p. 1-57, 2020.

GODÓI, I. P. et al. Participação das moléculas de água nos estudos de ancoragem molecular de inibidores de protease do vírus da dengue. **Biochemistry and Biotechnology Reports**, Edição Especial, v. 2, n. 2, p. 48-50, 2013.

GRUNBERGER, D. et al. Preferential cytotoxicity on tumor cells by caffeic acid phenethyl ester isolated from propolis. **Experientia**, v. 44, n. 3, p. 230-232, 1988.

GUIDO, R. V. C. et al. Planejamento de fármacos, biotecnologia e química medicinal: aplicações em doenças infecciosas. **Estud. Av.**, v. 24, n. 70, p. 81-98, 2010.

HALLIWELL, B. et al. The characterization of antioxidants. **Food and Chemical Toxicology**, v. 33, n. 7, p. 601-617, 1995.

HASLAM, E.; CAI, Y. Plant polyphenols (vegetable tannins)-gallic acid metabolism. **Nat. Prod. Rep.**, v. 11, p. 41-66. 1994.

HUANG, M.; LU, J. J.; DING, J. Natural products in cancer therapy: past, present and future. **Prod. Bioprospect**, V. 11, p. 5-13, 2021.

IKEDA, K. et al. Inhibition of multiplication of herpes simplex virus by caffeic acid. **International Journal of Molecular Medicine**, v. 28, n. 4, p. 595-598, 2011.

KURATA, A. et al. Synthesis of 3-cyclohexylpropyl caffeate from 5-caffeoylquinic acid with consecutive enzymatic conversions in ionic liquid. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 69, n. 3-4, p. 161-167, 2011.



LAGORCE, D. et al. Computational analysis of calculated physicochemical and ADMET properties of protein-protein interaction inhibitors. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 1-15, 2017.

LAZZARATO, L. et al. New nitric oxide or hydrogen sulfide releasing aspirins. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 54, n. 15, p. 5478-5484, 2011.

LEITE, C. A. V. G. et al. Receptores tirosina-quinase: implicações terapêuticas no câncer. **Rev. Bras. de Oncol. Clín.**, v. 8, n. 29, p. 130-142, 2012.

LIMA, L. M. et al. Synthesis and anti-inflammatory activity of phthalimide derivatives, designed as new thalidomide analogues. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 10, n. 9, p. 3067-3073, 2002.

LIMA, L. M.; FRAGA, C. A. M.; BARREIRO, E. J. The rebirth of a drug: thalidomide. **Química Nova**, v. 24, n. 5, p. 683-688, 2001.

LIPINSKI, C. A. et al. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 23, n. 1-3, p. 3-25, 1997.

LIU, Q. et al. Developing irreversible inhibitors of the protein kinase cysteinome. **Chemistry & Biology**, v. 20, n. 2, p. 146-159, 2013.

LOMBARDINO, J. G.; LOWE, J. A. The role of the medicinal chemist in drug discovery - then and now. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 3, n. 10, p. 853-862, 2004.

MA, Z. et al. Utilizando a melatonina para aliviar os efeitos colaterais da quimioterapia: um parceiro potencialmente bom para o tratamento do câncer com envelhecimento. **Medicina Oxidativa e Longevidade Celular**, v. 2020, 2020.

MELAGRAKI, G. et al. Synthesis and evaluation of the antioxidant and anti-inflammatory activity of novel coumarin-3-aminoamides and their alpha-lipoic acid adducts. **European journal of Medicinal Chemistry**, v. 44, n. 7, p. 3020-3026, 2009.

MORI, H.; IWAHASHI, H. Antioxidant activity of caffeic acid through a novel mechanism under uva irradiation. **J. Clin. Biochem. Nutr.**, v. 45, p. 49-55, 2009.

MORPHY, R.; KAY, C.; RANKOVIC, Z. From magic bullets to designed multiple ligands. **Drug discovery today**, v. 9, n. 15, p. 641-651, 2004.

MORRIS, G. M.; LIM-WILBY, M. Molecular docking. In: **Molecular modeling of proteins**. Humana Press, 2008. p. 365-382.

MUSUAMBA, F. T. et al. Verificando e validando sistemas quantitativos de farmacologia e em modelos de silico no desenvolvimento de medicamentos: necessidades atuais, lacunas e desafios. **CPT: Farmacologia e Sistemas Farmacologia**, v. 9, n. 4, p. 195, 2020.

NAIR, S. C.; PANIKKAR, K. R. Antitumour principles from *Ixora javanica*. **Cancer Letters**, v. 49, n. 2, p. 121-126, 1990.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014. **Journal of Natural Products**, v. 79, n. 3, p. 629-661, 2016.

NORMAN, R. A.; TOADER, D.; FERGUSON, A. D. Structural approaches to obtain kinase selectivity. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 33, n. 5, p. 273-278, 2012.

ELANSARY, H. O. et al. Mammillaria Species - polyphenols studies and anti-cancer, anti-oxidant, and anti-bacterial activities. **Molecules**, v. 25, n. 1, p. 1-12, 2020.

OLIVEIRA, D. M.; BASTOS, D. H. M. Biodisponibilidade de ácidos fenólicos. **Química Nova**, v. 34, n. 6, p. 1051-1056, 2011.

OMENE, C. et al. Abstract P4-07-03: Immunomodulation of triple negative breast cancer by caffeic acid phenethyl ester (CAPE). 2019.

PEREIRA, D. G. Importância do metabolismo no planejamento de fármacos. **Química nova**, v. 30, n. 1, p. 171-177, 2007.

RAINA, M. K.; BHATNAGAR, J. K.; ATAL, C. K. Isolation of caffeic acid from the roots of *Carissa spinarum* L. **Indian Journal of Pharmacy**, v. 33, n. 4, p. 76-77, 1971.

RAJENDRA-PRASAD, N.; KARTHIKEYAN, A.; KARTHIKEYAN, S.; REDDY, B.V. Inhibitory effect of caffeic acid on cancer cell proliferation by oxidative mechanism in human HT-1080 fibrosarcoma cell line. **Mol. Cell. Biochem.**, v. 349, p. 11-19. 2011.

SANT, C. M. R. et al. Métodos de modelagem molecular para estudo e planejamento de compostos bioativos: Uma introdução. **Revista Virtual de Química**, v. 1, n. 1, p. 49-57, 2009.

SILVA, B. V. et al. Proteínas quinases: características estruturais e inibidores químicos. **Química Nova**, v. 32, n. 2, p. 453-462, 2009.

SILVA, D. G.; EMERY, F. S. Strategies towards expansion of chemical space of natural product-based compounds to enable drug discovery. **Braz. J. Pharm. Sci.**, v. 54, n. especial, e. 01004, 2018.

SISAKHT, M.; MAHMOODZADEH, A.; DARABIAN, M. Plant-derived chemicals as potential inhibitors of SARS-CoV-2 main protease (6LU7), a virtual screening study. **Phytotherapy Research**, p. 1-13, 2021.

STRATTON, M. R.; CAMPBELL, P. J.; FUTREAL, P. A. The cancer genome. **Nature**, v. 458, n. 7239, p. 719-724, 2009.

TENG, Yu-Ning et al. Caffeic acid attenuates multi-drug resistance in cancer cells by inhibiting efflux function of human P-glycoprotein. **Molecules**, v. 25, n. 2, p. 247, 2020.

TERSTAPPEN, G. C.; REGGIANI, A. In silico research in drug discovery. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 22, n. 1, p. 23-26, 2001.

UBERSAX, J. A.; FERRELL J. E. Mechanisms of specificity in protein phosphorylation. **Nature reviews Molecular Cell biology**, v. 8, n. 7, p. 530-541, 2007.

UZZAMAN, M.; MAHMUD, T. Structural modification of aspirin to design a new potential cyclooxygenase (COX-2) inhibitors. **In Silico Pharmacology**, v. 8, n. 1, p. 1-14, 2020.

VOGELSTEIN, B. et al. Cancer genome landscapes. **Science**, v. 339, n. 6127, p. 1546-1558, 2013.

WALSH, C. T.; GARNEAU-TSODIKOVA, S.; GATTO J. R.; GREGORY, J. Protein posttranslational modifications: the chemistry of proteome diversifications. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 44, n. 45, p. 7342-7372, 2005.

YANG, H. et al. admetSAR 2.0: web-service for prediction and optimization of chemical ADMET properties. **Bioinformatics**, v. 35, n. 6, p. 1067-1069, 2018.

ZHAO, Y. K. et al. Determination of baicalin, chlorogenic acid and caffeic acid in traditional Chinese medicinal preparations by capillary zone electrophoresis. **Chromatographia**, v. 51, n. 7-8, p. 483-486, 2000.