

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ**

**MAYARA FERNANDA STRADA**

**ESTUDOS *IN SILICO* VISANDO APLICAÇÃO FARMACOLÓGICA DE CAFEATOS  
MONOTERPÊNICOS IDEALIZADOS**

**CAMPO MOURÃO**

**2021**

**MAYARA FERNANDA STRADA**

**ESTUDOS *IN SILICO* VISANDO APLICAÇÃO FARMACOLÓGICA DE CAFEATOS  
MONOTERPÊNICOS IDEALIZADOS**

**In silico studies aiming pharmacological application of idealized monoterpenic  
cafeates**

Trabalho de Conclusão de Curso de graduação, apresentado à disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso, do Curso de Licenciatura em Química do Departamento Acadêmico de Química –DAQUI – da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, como requisito parcial para obtenção do título de Licenciada em Química. Orientador: Prof. Dr. Adriano Lopes Romero.

**CAMPO MOURÃO**

**2021**



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

Esta licença permite download e compartilhamento do trabalho desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es), sem a possibilidade de alterá-lo ou utilizá-lo para fins comerciais. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

**MAYARA FERNANDA STRADA**

**ESTUDOS *IN SILICO* VISANDO APLICAÇÃO FARMACOLÓGICA DE CAFEATOS  
MONOTERPÊNICOS IDEALIZADOS**

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

Data de aprovação: 02 de dezembro de 2021

---

Rafaelle Bonzanini Romero

Doutora em Ciências pela Universidade Estadual de Campinas (2009), mestre em Química pela  
Universidade Estadual de Maringá (2004)  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

---

Ana Paula Peron

Doutora em Genética e Melhoramento pela Universidade de Maringá (2011), mestre em Agronomia  
pela Universidade Estadual de Maringá (2004)  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

---

Adriano Lopes Romero

Doutor em Educação em Ciências pela Universidade Estadual do Oeste do Paraná (2021), mestre em  
Química pela Universidade Estadual de Campinas (2007)  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

**CAMPO MOURÃO**

**2021**

*Dedico este trabalho a minha família, em especial à minha mãe,  
que de algum lugar do céu está guiando meu caminho.*

## AGRADECIMENTOS

A Deus por ter guiado meu caminho na escolha deste curso, ao qual sou imensamente grata por uma formação docente, científica e humana.

A minha mãe por todo amor, incentivo, desabafos e ajuda. Agradeço pelo auxílio financeiro durante a graduação, sem a qual, eu não teria conseguido chegar até aqui.

Ao Bruno, meu parceiro de vida, com quem eu pude contar em todos os momentos e que sempre esteve presente para mim.

A toda a minha família que em momentos difíceis me mostraram a esperança de um futuro melhor.

Agradeço ao professor Adriano e a professora Rafaelle pela orientação na iniciação científica e no TCC, agradeço por terem me possibilitado essa maravilhosa experiência científica acerca da Química Farmacêutica, ao qual quero dar continuidade no mestrado e doutorado acadêmico. Não tenho palavras para agradecer, mas quero deixar aqui os meus sinceros agradecimentos.

Agradeço a professora Natália pela formação docente de excelência que tivemos, agradeço também as professoras Daniela, Ana Paula, Estela, Adriana, Piza e Gustavo que foram de imensa importância durante a graduação. Agradeço também os demais professores do curso, que possibilitaram que eu tivesse uma formação não apenas científica, mas também mais humana ao longo do curso.

Agradeço também a todas as pessoas que não citei aqui, mas que de forma direta ou indiretamente me auxiliaram nesse percurso, agradeço também a todas as oportunidades que o curso me ofereceu.

Agradeço aos governos federais passados que investiram no Ensino Superior público, com a criação de novas universidades, novos cursos e incentivo à educação e pesquisa, sem isso, eu jamais teria acesso ao Ensino Superior público.

A UTFPR pela experiência.

“A natureza é um enorme jogo de xadrez disputado por deuses, e que temos o privilégio de observar. As regras do jogo são o que chamamos de física fundamental, e compreender essas regras é a nossa meta”.

Richard Feynman

## RESUMO

O ácido cafeico é um composto natural pertencente à classe dos fenilpropanóides que possui diferentes propriedades farmacológicas. Assim, visando potencializar os efeitos do ácido cafeico, utilizou-se a técnica de hibridação molecular do ácido cafeico com álcoois monoterpênicos, reportados na literatura como promissores agentes terapêuticos. Dessa forma, no presente trabalho avaliou-se *in silico*, a fim de reduzir custos e tempo, as propriedades farmacocinéticas e o potencial farmacológico do ácido cafeico (**1**), de dez álcoois monoterpênicos (**2-11**) e dos dez cafeatos monoterpênicos idealizados (**12-21**), resultantes da hibridação do ácido cafeico com os álcoois monoterpênicos: (+)-linalol (**2**), mentol (**3**), mirtenol (**4**), álcool perílico (**5**), verbenol (**6**), cicloexanol (**7**), carveol (**8**), citrionelol (**9**), geraniol (**10**) e (-)-linalol (**11**). As propriedades moleculares e farmacológicas foram avaliadas por meio de ferramentas de quimioinformática. A partir da análise dos dados obtidos no *Molinspiration* observa-se que não houve nenhuma violação à regra dos cinco de Lipinski, desse modo, é provável que os compostos avaliados apresentem boa biodisponibilidade oral. Além disso, o *Molinspiration* indicou potencial farmacológico para os compostos, e os resultados obtidos na ferramenta *Swiss Target Prediction* indicaram que a maioria dos híbridos idealizados apontaram significativamente para a inibição da enzima 17-beta-desidrogenase 2. Com o *docking* molecular observou-se que todos os compostos avaliados se encontravam ancorados no canal que está localizado o sítio ativo da enzima. A enzima possui duas fendas de acesso ao sítio ativo e a maioria dos compostos ficaram mais próximos à fenda maior, que está mais distante do sítio ativo. Logo tais interações podem não resultar em inibição enzimática, ademais, verificou-se que os compostos **14** e **19** ancoraram-se no sítio ativo da enzima, interagindo com o resíduo de aminoácido Tyr 155, isso pôde ser confirmado pelo dendrograma gerado no *software*. Avaliou-se também as propriedades ADMET dos compostos, que apresentaram resultados negativos para o parâmetro de inibição e substrato da glicoproteína-P e a maioria dos compostos avaliados, exceto o composto **10**, não inibem as isoformas do citocromo CYP 450. Em relação à mutagenicidade e carcinogenicidade, observou-se que os compostos avaliados apresentaram resultados negativos para o modelo de mutagenicidade, e apenas o composto **8** apresentou resultado positivo para esse modelo, desse modo, constata-se uma baixa ou nula toxicidade para os compostos. Assim, os compostos apresentaram parâmetros ADMET condizentes para candidatos à fármacos. De acordo com os resultados obtidos, os cafeatos de mirtenila e citronila (compostos **14** e **19**) apresentaram como potencial alvo de inibição a enzima 17-beta-desidrogenase 2 e mediante a ancoragem molecular, os compostos ancoraram-se no sítio ativo da enzima e interagiram com uma energia efetiva com o resíduo de aminoácido Tyr 155 presente no sítio ativo da mesma. Ademais, esses cafeatos apresentaram propriedades farmacocinéticas e farmacológicas condizentes para candidatos à fármacos. Tais resultados indicam a potencialidade de investir em testes *in vitro* ou *in vivo* para continuação da pesquisa e desenvolvimento de novos fármacos. Assim, esses dois cafeatos possuem potencial atividade para inibir a enzima 17-beta-desidrogenase 2, e atuar no tratamento do câncer de mama.

**PALAVRAS-CHAVE:** Ácido cafeico; 17-beta-desidrogenase 2; Câncer de mama.

## ABSTRACT

Caffeic acid is a natural compound belonging to the phenylpropanoid class that has different pharmacological properties. Thus, in order to enhance the effects of caffeic acid, we used the molecular hybridization technique of caffeic acid with monoterpenic alcohols, reported in the literature as promising therapeutic agents. Thus, in this study, *in silico*, in order to reduce costs and time, the pharmacokinetic properties and pharmacological potential of caffeic acid (1), ten monoterpenic alcohols (2-11) and ten idealized monoterpenic caffeates (12-21), resulting from the hybridization of caffeic acid with monoterpenic alcohols: (+)-linalool (2), menthol (3), myrtenol (4), peryl alcohol (5), verbenol (6), cyclohexanol (7), carveol (8), citronellol (9), geraniol (10) and (-)-linalool (11). The molecular and pharmacological properties were evaluated using cheminformatics tools. From the analysis of data obtained from Molinspiration, it can be observed that there was no violation of Lipinski's rule of five, thus, it is likely that the compounds evaluated present good oral bioavailability. Furthermore, Molinspiration indicated pharmacological potential for the compounds, and the results obtained with the Swiss Target Prediction tool indicated that most idealized hybrids significantly pointed to the inhibition of the enzyme 17-beta-dehydrogenase 2. With molecular docking it was observed that all compounds evaluated were anchored in the channel that is the active site of the enzyme. The enzyme has two access slits to the active site and most compounds were closer to the larger slit, which is further away from the active site. Therefore, such interactions may not result in enzymatic inhibition, moreover, it was found that compounds 14 and 19 anchored in the active site of the enzyme, interacting with the amino acid residue Tyr 155, this could be confirmed by the dendrogram generated in the software. The ADMET properties of the compounds were also evaluated, which showed negative results for the P-glycoprotein inhibition parameter and substrate and most of the compounds evaluated, except for compound 10, do not inhibit the cytochrome CYP 450 isoforms. Regarding mutagenicity and carcinogenicity, it was observed that the evaluated compounds had negative results for the mutagenicity model, and only compound 8 had a positive result for this model, thus, there is little or no toxicity for the compounds. Thus, the compounds showed ADMET parameters suitable for drug candidates. According to the results obtained, myrtenyl and citronyl caffeates (compounds 14 and 19) presented as a potential target for inhibition the enzyme 17-beta-dehydrogenase 2 and by molecular anchoring, the compounds anchored in the active site of the enzyme and interacted with an effective energy with the amino acid residue Tyr 155 present in its active site. Furthermore, these caffeates showed pharmacokinetic and pharmacological properties suitable for drug candidates. These results indicate the potential to invest in *in vitro* or *in vivo* tests to continue research and development of new drugs. Thus, these two caffeates have potential activity to inhibit the enzyme 17-beta-dehydrogenase 2, and act in the treatment of breast cancer.

**KEY-WORDS:** Caffeic acid; 17-beta-dehydrogenase 2; Breast cancer.



## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> – Mutagênese do câncer.....	15
<b>Figura 2</b> – Biossíntese dos fenilpropanóides .....	17
<b>Figura 3</b> – Estrutura química do ácido cafeico .....	17
<b>Figura 4</b> – Classificação dos compostos fenólicos .....	18
<b>Figura 5</b> – Moléculas de álcoois monoterpênicos bioativas avaliadas neste estudo. ....	23
<b>Figura 6</b> - Hibridação molecular do ácido cafeico (1) com o cicloexanol (7) .....	23
<b>Figura 7</b> - Representação dos cafeatos monoterpênicos (12-21) avaliados neste trabalho. ....	24
<b>Figura 8</b> - (a) Representação das fendas de entrada da enzima 17-beta-desidrogenase 2.....	31
<b>Figura 8</b> – (b) Representação das fendas de entrada da enzima 17-beta-desidrogenase 2.....	31
<b>Figura 9</b> - (a) Enzima 17-beta-desidrogenase 2 com seu ligante natural. ....	32
<b>Figura 9</b> - (b) Representação dos compostos 1-21 ancorados na enzima 17-beta-desidrogenase 2 .....	32
<b>Figura 10</b> - Bloqueio de uma das fendas de entrada.....	32
<b>Figura 11</b> - Dendograma: agrupamento hierárquico das interações dos compostos com os resíduos de aminoácidos da proteína 17-beta-desidrogenase 2.....	36
<b>Figura 12</b> - Representação do cafeato de mirtenol com indicação dos grupos que sofrem metabolização (R <sup>1</sup> a R <sup>6</sup> ). ....	40
<b>Figura 13</b> -Representação do cafeato de citronelol com indicação dos grupos que sofrem metabolização (R <sup>1</sup> a R <sup>6</sup> ). ....	40

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> – Propriedades moleculares, determinadas na ferramenta <i>Molinspiration</i> , dos compostos <b>1-21</b> .....	28
<b>Tabela 2</b> – Predição de bioatividades, determinadas na ferramenta <i>Molinspiration</i> , para os compostos 1-21. ....	29
<b>Tabela 3</b> - Energias de interação enzima-ligante, em kcal.mol <sup>-1</sup> , obtidas do estudo de ancoragem molecular. ....	37
<b>Tabela 4</b> – Propriedades farmacocinéticas, determinadas na ferramenta admetSAR, dos compostos <b>1-21</b> .....	39
<b>Tabela 5</b> - Toxicidade oral aguda dos metabólitos formados a partir dos cafeatos de mirtenol e de citronelol.....	41

## LISTA DE ABREVIATURAS

**ADMET** Administração, Distribuição, Metabolização, Excreção e Toxicidade

**BRCA1** Breast Cancer gene 1

**BRCA2** Breast Cancer gene 2

**INCA** Instituto Nacional de Câncer

**LH** Ligação de Hidrogênio

**LogP** Coeficiente de Partição Octanol/Água

**MM** Massa Molar

**nALH** Número de Aceptores de Ligação de Hidrogênio

**nDLH** Número de Doadores de Ligação de Hidrogênio

**P-gp** Glicoproteína P

**P&D** Pesquisa & Desenvolvimento

**TPSA** Área Superficial Topológica Polar

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>12</b>
<b>2 OBJETIVOS .....</b>	<b>14</b>
<b>2.1 Objetivo geral.....</b>	<b>14</b>
<b>2.2 Objetivos específicos.....</b>	<b>14</b>
<b>3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>15</b>
<b>3.1 Alguns aspectos do câncer de mama.....</b>	<b>15</b>
<b>3.2 Produtos naturais bioativos .....</b>	<b>16</b>
3.2.1 Ácido Cafeico.....	17
3.2.2 Álcoois Monoterpênicos.....	19
3.2.3 Cafeatos Monoterpênicos .....	19
<b>3.3 Hibridação molecular .....</b>	<b>19</b>
<b>3.4 Propriedades farmacocinéticas e farmacológicas.....</b>	<b>20</b>
3.4.1 Absorção (A) .....	20
3.4.2 Metabolismo (M) e Excreção (E) .....	21
3.4.3 Propriedades Farmacodinâmicas .....	21
<b>3.5 Ferramentas computacionais em química farmacêutica .....</b>	<b>21</b>
<b>4 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS.....</b>	<b>23</b>
<b>4.1 Hibridação molecular do ácido cafeico com compostos fenólicos naturais.....</b>	<b>23</b>
<b>4.2 Ferramentas computacionais de farmacologia <i>in silico</i> .....</b>	<b>25</b>
4.2.1 Modelagem das estruturas moleculares.....	25
4.2.2 Predição de propriedades moleculares e bioatividades .....	25
4.2.3 Estudo de Ancoragem Molecular .....	26
4.2.4 Predição de propriedades farmacocinéticas.....	26
4.2.5 Predição de metabólitos e suas toxicidades.....	26
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>28</b>
<b>5.1 Avaliação de propriedades moleculares e bioatividades.....</b>	<b>28</b>
<b>5.2 Estudo de ancoragem molecular frente à enzima 17-beta-desidrogenase 2.....</b>	<b>31</b>
<b>5.3 Propriedades farmacocinéticas .....</b>	<b>37</b>
<b>6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>42</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>43</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Atualmente, o câncer de mama é o mais incidente entre as mulheres de todo o mundo (BRAY *et al.*, 2018; FERLAY *et al.*, 2018). De acordo com o Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA), em 2017, no Brasil, ocorreram 16.724 mortes por câncer de mama feminino, equivalente a um risco de 16,16 por 100 mil. Esse instituto, a partir da integração de informações de 321 registros hospitalares de câncer e uma série histórica de 38 anos de informações sobre mortalidade, realizou, em 2019, uma estimativa acerca da incidência de câncer no Brasil para os anos de 2020 a 2022, desse modo, estima-se que haverá 66.280 novos casos de câncer de mama no Brasil (INCA, 2019). Essa estimativa foi realizada com o intuito de estimular profissionais da saúde e áreas afins a refletirem sobre esses resultados estimados, a fim de enfrentar os desafios do câncer para que haja o desenvolvimento de ações eficazes para solucionar esse problema de saúde pública.

O câncer de mama é causado pela multiplicação anormal de células da mama, sendo por meio dessa multiplicação anormal de células que os tumores são formados. Alguns fatores aumentam o risco de câncer de mama, podendo ser divididos em fatores ambientais e comportamentais, fatores acerca da história reprodutiva e hormonal da mulher e fatores genéticos e hereditários (INCA, 2019).

Nos fatores ambientais e comportamentais entram situações de obesidade e sobrepeso após a menopausa, sedentarismo e inatividade física, consumo de bebida alcoólica e exposição frequente às radiações ionizantes como Raios-X. Já os fatores acerca da história reprodutiva e hormonal da mulher, contam com a primeira menstruação antes de 12 anos, não ter tido filhos, primeira gravidez após os 30 anos, menopausa após os 55 anos, uso de contraceptivos hormonais e ter feito reposição hormonal pós-menopausa, principalmente por mais de cinco anos. E, os fatores genéticos e hereditários dispõem de histórico familiar de câncer de ovário, casos de câncer de mama na família, principalmente antes dos 50 anos, histórico familiar de câncer de mama em homens e alteração genética, especialmente nos genes BRCA1 e BRCA2 (INCA, 2019).

Na literatura, o ácido cafeico vem sendo reportado por suas propriedades terapêuticas, principalmente por sua atividade antitumoral (KANG *et al.*, 2009), antibacteriana (ANI *et al.*, 2006), antimutagênica (YAMADA *et al.*, 1996) e anti-inflamatória (CHEN *et al.*, 2007). O ácido cafeico é um composto natural pertencente à classe dos fenilpropanóides. Outra classe de produtos naturais que também tem sido reportada por suas propriedades terapêuticas é a dos álcoois monoterpênicos, que se destacam por suas atividades analgésicas, antibacterianas,

sedativas, expectorantes e antioxidantes (CÔELHO *et al.*, 2013). Tanto o ácido cafeico quanto os álcoois monoterpênicos são compostos naturais bioativos, possuem interesse farmacológico, e são matérias-primas abundantes, o que os tornam promissores para serem utilizados em técnicas de hibridação molecular (VIEGAS-JUNIOR *et al.*, 2007) com o intuito de potencializar suas atividades biológicas. O resultado da técnica de hibridação molecular com os precursores mencionados (ácido cafeico e álcoois monoterpênicos) são ésteres, que à princípio podem ter atividades farmacológicas acentuadas e efeitos colaterais minimizados. Durante fase inicial dos estudos *in silico* com os ésteres idealizados para o presente trabalho, ao realizar um *screening* de possíveis alvos farmacológicos, observou-se que alguns dos cafeatos monoterpênicos inibem uma enzima associada ao câncer de mama. Desse modo, o objetivo do trabalho foi avaliar os cafeatos monoterpênicos idealizados enquanto possíveis candidatos para o tratamento do câncer de mama tendo em vista que a quimioterapia é um dos recursos utilizados no tratamento deste câncer, e que esse tratamento é muito agressivo visto que os medicamentos utilizados não são seletivos, isto é, eliminam também células não cancerígenas.

Nesse contexto, buscando contribuir para a pesquisa e desenvolvimento de novos medicamentos que sejam mais seletivos e que possuam menores efeitos adversos, o presente trabalho teve como objetivo avaliar *in silico* (por meio do uso de ferramentas computacionais) o potencial farmacológico de cafeatos monoterpênicos, ésteres derivados do ácido cafeico e de álcoois monoterpênicos.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

O objetivo deste trabalho foi avaliar *in silico* as propriedades farmacocinéticas e farmacológicas de dez cafeatos alcoólicos (12-21), híbridos do ácido cafeico (1) e álcoois monoterpênicos (2-11).

### 2.2 Objetivos específicos

- Avaliar *in silico* as propriedades moleculares e ADMET (Absorção, Distribuição, Metabolismo, Excreção e Toxicidade) do ácido cafeico, de álcoois monoterpênicos e de cafeatos monoterpênicos idealizados;
- Determinar bioatividades e potenciais bioreceptores para o ácido cafeico, álcoois monoterpênicos, e cafeatos monoterpênicos idealizados;
- Realizar estudo de ancoragem molecular do ácido cafeico, de álcoois monoterpênicos, e de cafeatos monoterpênicos idealizados;
- Determinar efeitos tóxicos de possíveis metabólitos dos cafeatos monoterpênicos idealizados que se mostrarem promissores nos estudos *in silico*.

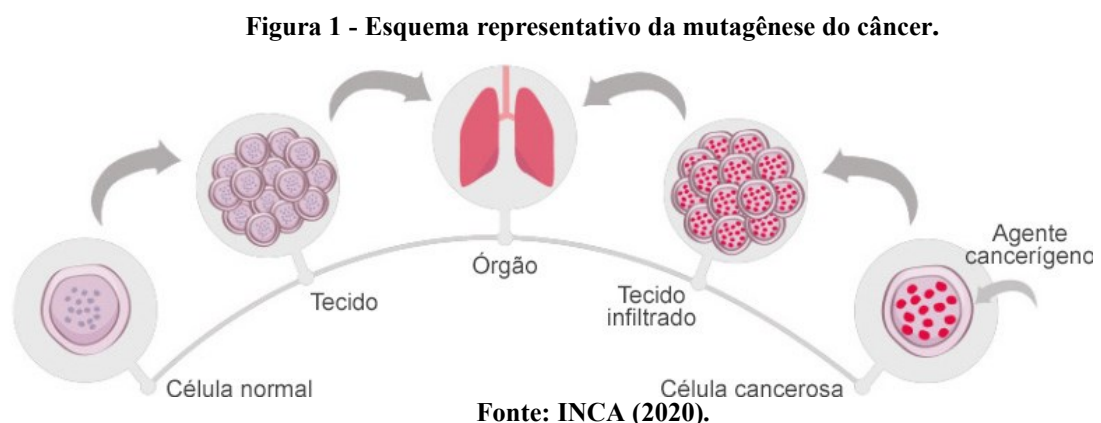
### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 Alguns aspectos do câncer de mama

O câncer é uma doença essencialmente de origem genética, ocasionado por mutações em genes específicos do DNA de uma célula. Essas mutações podem ter origem por diversos fatores externos (consumo de cigarro e álcool, dieta inadequada, falta de exercícios físicos, exposição ocupacional, às radiações e à produtos químicos, entre outros) e internos (sistema imunológico comprometido, hormônios, predisposição genética, entre outros), sendo que atualmente, devido aos avanços avindos da área de Biologia Celular, alguns mecanismos e genes puderam ser mapeados e estudados (INCA, 2020).

Os genes são responsáveis por regular muitos processos de proliferação e diferenciação celular, assim, desempenham papel fundamental no ciclo celular. Alterações em genes específicos podem acarretar em desregulações no processo de proliferação celular, de modo que algumas células (células malignas) se desenvolvem de forma desordenada, levando à formação de um tumor maligno, que tende a se espalhar para demais tecidos do corpo, uma vez que o processo de proliferação celular não cessa (INCA, 2020).

Observa-se, na Figura 1, tanto o processo de formação de tecidos por células normais quanto o surgimento de um tecido infiltrado originado por células cancerígenas, representando que células tumorais podem invadir órgãos (INCA, 2020).



No Brasil, excetuando a região norte, o câncer de mama é o mais incidente na população feminina, representando um problema de saúde pública no país. O câncer de mama ocorre por uma multiplicação desordenada de células da mama, e essas células anormais que se



multiplicam formam um tumor. Cada tumor apresenta características próprias, por isso, existem vários tipos de câncer (INCA, 2020) e em diferentes estágios.

Alguns fatores aumentam o risco de câncer de mama, podendo ser divididos em fatores ambientais e comportamentais, fatores acerca da história reprodutiva e hormonal da mulher e fatores genéticos e hereditários. Nos fatores ambientais e comportamentais entram situações de obesidade e sobrepeso após a menopausa, sedentarismo e inatividade física, consumo de bebida alcoólica e exposição frequente às radiações ionizantes como Raios-X. Já os fatores acerca da história reprodutiva e hormonal da mulher, contam com a primeira menstruação antes de 12 anos, não ter tido filhos, primeira gravidez após os 30 anos, menopausa após os 55 anos, uso de contraceptivos hormonais e ter feito reposição hormonal pós-menopausa, principalmente por mais de cinco anos. E, os fatores genéticos e hereditários dispõem de histórico familiar de câncer de ovário, casos de câncer de mama na família, principalmente antes dos 50 anos, histórico familiar de câncer de mama em homens e alteração genética, especialmente nos genes BRCA1 e BRCA2 (INCA, 2019).

Atualmente, muitos avanços vêm ocorrendo no tratamento do câncer de mama, sendo que nas últimas décadas o conhecimento sobre a mutagênese do câncer possibilitou delinear procedimentos mais seletivos, visando a eficácia e segurança do paciente. No entanto, sabe-se que o tratamento de neoplasias depende da fase em que a doença se encontra e do tipo do tumor. Assim, alguns procedimentos podem incluir cirurgia, radioterapia, quimioterapia, hormonioterapia e terapia biológica (terapia alvo). Além disso, é comum a combinação de mais de um tipo de tratamento (INCA, 2020).

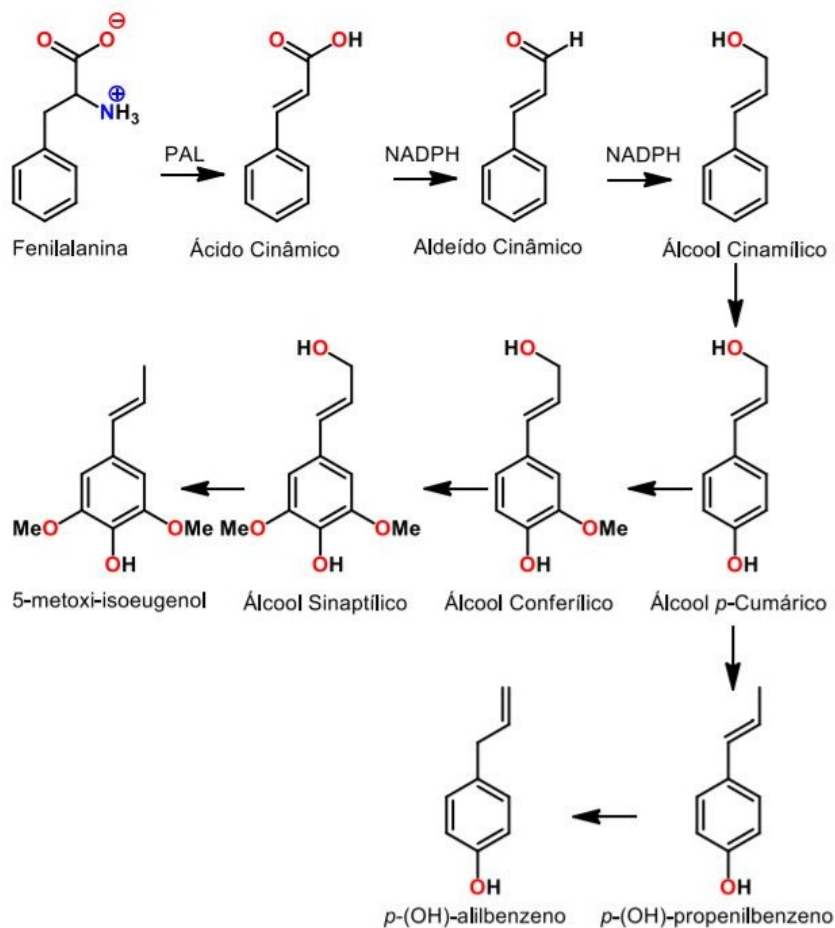
De acordo com o INCA (2020), se a doença é diagnosticada no início, o tratamento tem maior eficácia. No caso de a doença já possuir metástases (quando o câncer se espalhou para outros órgãos), o tratamento busca prolongar a sobrevida e melhorar a qualidade de vida do paciente.

### **3.2 Produtos naturais bioativos**

Os fenilpropanóides pertencem à classe dos produtos naturais e são um importante grupo visto suas propriedades terapêuticas, como atividades antimicrobiana e antitumoral (ASSIS, 2018). Alguns estudos vêm apresentando o ácido cinâmico e seus derivados, como o ácido cafeico, ambos compostos da classe dos fenilpropanóides, com diferentes atividades biológicas (KANG *et al.*, 2008). Assim, são descritos na literatura como possíveis candidatos à fármacos (SOVA, 2012).

A biossíntese dos fenilpropanóides (Figura 2) ocorre por meio da via do chiquimato, passando pela fenilalanina; e pela ação enzimática da Fenilalanina Liase (PAL) há formação dos ácidos cinâmicos. Esses ácidos podem sofrer redução a álcoois cinâmicos dando origem as ligninas, ou podem ser convertidos a arilfenóis ou a propenilfenóis, que originarão as neolignanas (BORGES, 2014). Os lignóides constituem parte da matéria seca dos troncos de gimnospermas e angiospermas, e é encontrado nas paredes celulares de organismos vegetais (BARBOSA-FILHO, 2010); os lignóides também possuem um amplo campo de bioatividades, como: atividades anti-chagásica, antifúngica e antioxidante (SOUSA; NAKAMURA; CORRÊA, 2012).

**Figura 2 - Esquema representativo da biossíntese dos fenilpropanóides.**



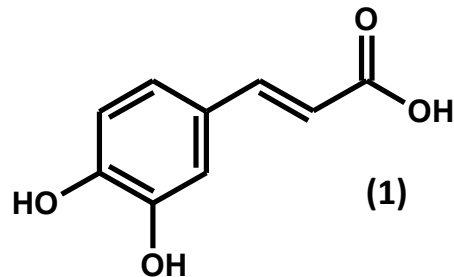
Fonte: Adaptado de Funasaki (2006, p. 50).

### 3.2.1 Ácido Cafeico

O ácido cafeico (Figura 3) é um ácido hidroxicinâmico descrito por suas bioatividades, e é, junto com o ácido cinâmico, um dos potenciais agentes terapêuticos representante da classe dos fenilpropanóides. Como é de origem natural está presente em várias espécies de plantas,

alimentos e bebidas de origem vegetal e animal, como o café, vinho, cerveja, azeite, tomate e outros.

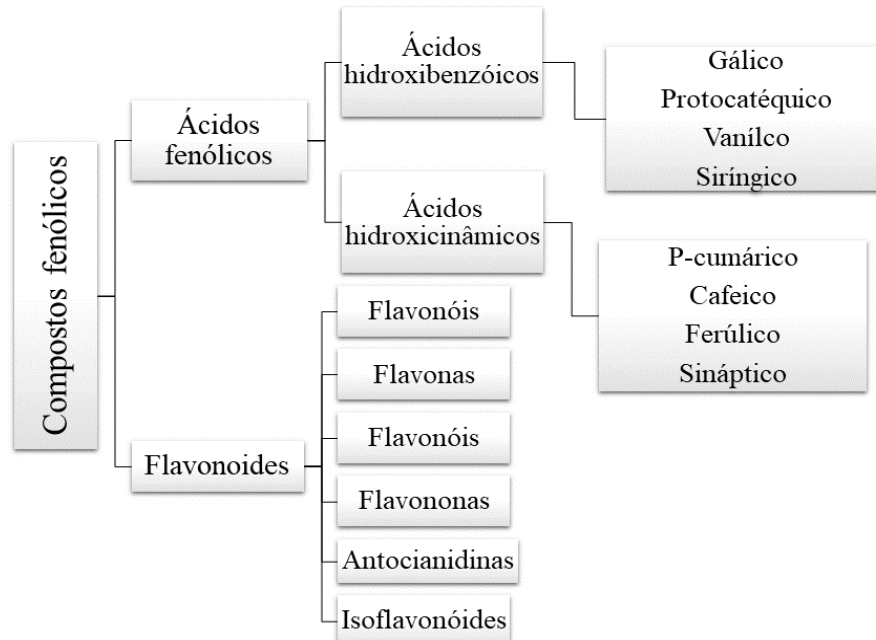
Figura 3 - Estrutura molecular do ácido cafeico.



Fonte: Autoria própria (2021).

Os compostos fenólicos, do qual o ácido cafeico faz parte, são classificados em dois grupos (Figura 4): ácidos fenólicos e flavonoides. Por sua vez, os ácidos fenólicos estão subdivididos em ácidos hidroxibenzoicos e ácidos hidroxicinâmicos, cujo ácido cafeico é pertencente. Os compostos da subclasse dos ácidos hidroxicinâmicos são derivados do ácido cinâmico e ocorrem naturalmente em muitas espécies de plantas. Os compostos fenólicos biossintetizados pelo aminoácido fenilalanina são denominados fenilpropanóides.

Figura 4 - Classificação dos compostos fenólicos.



Fonte: Autoria própria (2021).

Dentre as atividades biológicas do ácido cafeico reportadas na literatura, destacam-se a atividade antitumoral (KANG *et al.*, 2009), antibacteriana (ANI *et al.*, 2006), antimutagênica (YAMADA *et al.*, 1996) e anti-inflamatória (CHEN *et al.*, 2007).

### 3.2.2 Álcoois Monoterpênicos

Os óleos essenciais possuem em sua composição cerca de 90% de terpenóides, principalmente por monoterpenos. Esses óleos são produzidos nas plantas como metabólitos secundários e podem ser extraídos de flores, folhas, frutos, sementes, raízes, rizomas e caules, possuindo a função de atrair os insetos para a polinização, regular a taxa de decomposição da matéria orgânica do solo e como agentes antimicrobianos, atuam também como uma proteção contra herbívoros. Ademais, os óleos essenciais permitem uma adaptação melhor da planta ao ambiente (PINTO-ZERVALOS *et al.*, 2013).

Os óleos essenciais destacam-se por suas propriedades terapêuticas, tais como atividades analgésicas, antibacterianas, sedativas, expectorantes e antioxidante (CÔELHO *et al.*, 2013). Possuem também atividades antimicrobiana, antifúngica capazes de repelir insetos transmissores de doenças, como a Chagas e a dengue (SIANI *et al.*, 2000), e ação contra bactérias Gram-negativas e Gram-positivas (STIEVEN; MOREIRA; SILVA, 2010). Desse modo, os álcoois monoterpênicos, que estão presentes em óleos essenciais, são potenciais candidatos à fármacos devido às várias propriedades terapêuticas reportadas na literatura.

### 3.2.3 Cafeatos Monoterpênicos

Os cafeatos monoterpênicos são biossintetizados em organismos vegetais por meio de uma reação de esterificação entre o ácido cafeico e um álcool monoterpênico, cujas moléculas sofrem desidratação intermolecular e catálise por enzimas (SANTOS, 2010). Os cafeatos monoterpênicos têm sido utilizados na indústria farmacêutica e de cosméticos, como composições de diversos filtro solares (BORGES, 2014). Alguns estudos também vêm demonstrando que o cafeato de bornila demonstra ação inibitória sobre as ciclooxigenases (COXs) e a 5-lipoxigenase (LOX), enzima importante do ciclo araquidônico que resulta nos leucotrienos (LTE), responsável por processos patológicos no trato respiratório, como asma e bronquite (ROBBINS *et al.*, 2005).

Os cafeatos monoterpênicos pertencem à classe de produtos naturais e têm sido modelo para a síntese de fármacos, visto que possuem variadas atividades biológicas e baixa toxicidade (BORGES, 2014).

## 3.3 Hibridação molecular

A hibridação molecular é uma técnica estratégica para a pesquisa e desenvolvimento (P&D) de novos fármacos (VIEGAS-JUNIOR *et al.*, 2007). Ela consiste na combinação de moléculas bioativas visando melhorar a atividade e propriedades farmacocinéticas do composto precursor à hibridação. Nas últimas décadas o uso dessa estratégia tem aumentado no contexto da P&D de novos medicamentos, principalmente derivados de fármacos já comercializados como o ibuprofeno e a talidomida (BOSQUESI *et al.*, 2011).

Essa estratégia se baseia em selecionar compostos bioativos ou fármacos já comercializados, e, identificar os grupamentos farmacofóricos desses compostos para então, juntá-los em um só, desse modo, o híbrido, composto resultante, apresenta um aumento da atividade farmacológica (VIEGAS-JUNIOR *et al.*, 2007).

### **3.4 Propriedades farmacocinéticas e farmacológicas**

As propriedades farmacocinéticas ou ADMET referem-se à absorção, distribuição, metabolização, excreção e toxicidade de um fármaco. Esses parâmetros são fundamentais quando se planeja um medicamento, visto que, após ser administrado por via oral o fármaco precisa ser absorvido pelo organismo, para ser distribuído pela corrente sanguínea e chegar ao seu local de ação farmacológica, para que então possa ser metabolizado e excretado.

#### **3.4.1 Absorção (A)**

Após a administração de um fármaco, o mesmo deve ser absorvido pelo estômago ou intestino (absorção gastrointestinal). A absorção pode ser transcelular, que é a simples difusão passiva através das membranas celulares, ou pode ocorrer por mecanismo paracelular, passagem entre as células intestinais, ou ainda por transporte ativo, no qual acontece a mediação por carregadores, cujo processo requer energia (MODA, 2007).

A solubilidade e a lipofilia são as duas propriedades que influenciam na absorção dos fármacos. Para que um fármaco seja absorvido pelo organismo é necessário que o mesmo se desintegre no estômago ou intestino de acordo com o pH de seu revestimento, em seguida, é necessário que ocorra a dissolução de seu princípio ativo. Uma boa solubilidade está relacionada com uma moderada lipofilia, uma vez que a lipofilia é a propriedade que caracteriza a passagem do princípio ativo do meio extracelular para o meio intracelular através da bicamada lipídica da célula (MODA, 2007).

### 3.4.2 Metabolismo (M) e Excreção (E)

Os fármacos passam por um conjunto de transformações para então serem excretados do organismo. O fígado é o principal local onde os fármacos são metabolizados, entretanto, não é o único lugar onde esse processo ocorre. A excreção, por sua vez, ocorre de modo principal pelas vias urinárias (MODA, 2007).

### 3.4.3 Propriedades Farmacodinâmicas

A interação que ocorre entre uma proteína e seu substrato pode ser entendida pelo modelo “chave-fechadura”. Esse modelo, desenvolvido por Fischer, é utilizado para explicar a seletividade entre as enzimas e seus substratos, as enzimas são proteínas que catalisam reações químicas. A chave corresponde à uma micromolécula, a fechadura à uma macromolécula e a fenda da fechadura corresponde ao sítio ativo da enzima; as micromoléculas se ancoram no sítio ativo da macromolécula por meio de interações intermoleculares e/ou ligações covalentes com os resíduos de aminoácidos presentes no sítio ativo da enzima. Entretanto, alguns compostos conseguem se alocar próximo ao sítio ativo da enzima, apesar de não conseguirem ancorar-se na mesma, e desse modo apesar de não serem a chave dessa fechadura bloqueiam a entrada do ligante natural (BARREIRO, 2015).

Essas interações entre proteína-substrato são importantes parâmetros no planejamento de fármacos, visto que os mesmos devem possuir seletividade (MODA, 2007). Desse modo, a ancoragem ou *docking molecular* avalia as interações entre enzima-substrato por meio da orientação e conformação dos mesmos, assim como, verifica a atividade de um ligante. Para isso, normalmente se usa um modelo que mantém a estrutura da proteína fixa e alterna as conformações do substrato até alcançar a região mais favorável na interação proteína-ligante (MUNIZ, 2018).

## 3.5 Ferramentas computacionais em química farmacêutica

As ferramentas computacionais são relevantes não somente para o desenvolvimento da Química, mas também para outras áreas do conhecimento, como na Farmacologia, por exemplo. O termo *in silico* refere-se a estudos ou simulações computacionais, desenvolvidos nessas ferramentas computacionais, que em sua maioria são de livre acesso (IUPAC, 2007). Assim, a quimioinformática vem sendo amplamente utilizada na área de Química Farmacêutica para a

realização dos processos de planejamento, pesquisa e desenvolvimento de novos agentes terapêuticos (MODA, 2007).

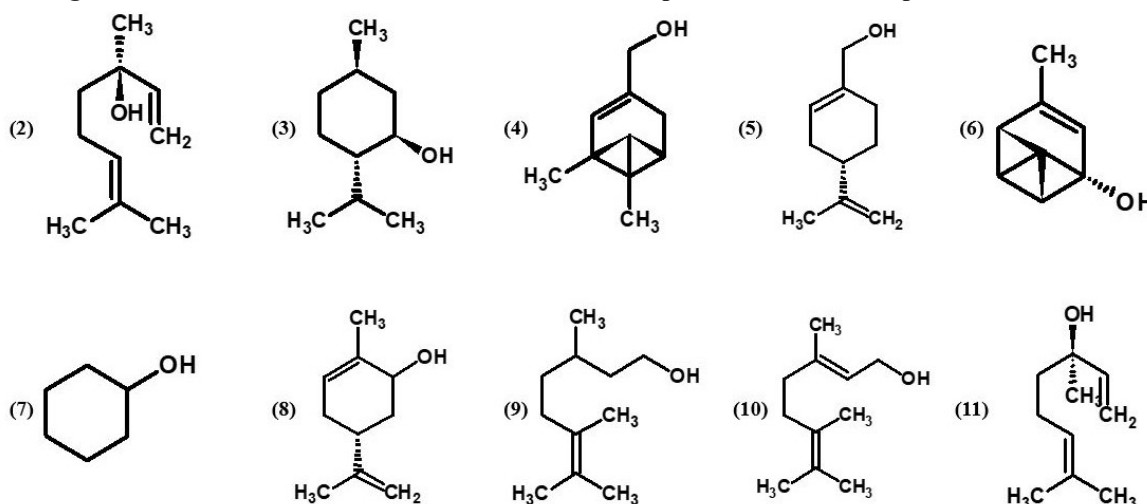
Os métodos tradicionais de pesquisa e desenvolvimento de novos agentes terapêuticos demandam tempo e seus custos são bastante elevados. De acordo com Ortega *et al.* (2012), a indústria farmacêutica leva de 8 a 15 anos para que um novo medicamento seja produzido, desde seu planejamento até sua síntese, ademais esse processo pode custar em torno de US\$ 1,8 bilhões de dólares (ORTEGA *et al.*, 2012). Dessa maneira, a farmacologia *in silico*, simulações computacionais, consistem em softwares que avaliam as propriedades farmacocinéticas e farmacológicas de possíveis candidatos a fármacos. Tais estudos requerem menos tempo que os métodos convencionais utilizados na P&D de fármacos, e apresentam custos consideravelmente mais baixos, visto que essas simulações computacionais realizam uma triagem dos compostos antes de sintetizá-los (EKINS *et al.*, 2007).

## 4 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

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

Para o presente trabalho avaliou-se *in silico* as propriedades farmacocinéticas e o potencial farmacológico do ácido cafeico, de dez álcoois monoterpênicos e dos dez cafeatos monoterpênicos idealizados, resultantes da hibridação do ácido cafeico com os álcoois selecionados. Os álcoois selecionados para este trabalho foram: (+)-linalol (2), mentol (3), mirtenol (4), álcool perílico (5), verbenol (6), cicloexanol (7), carveol (8), citronelol (9), geraniol (10) e (-)-linalol (11) (Figura 5).

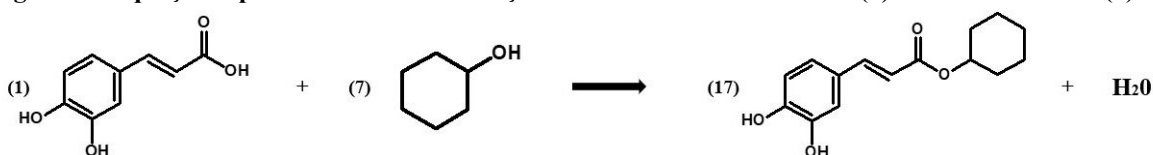
Figura 5 - Estruturas moleculares dos álcoois monoterpênicos avaliados no presente estudo.



Fonte: Autoria própria (2021).

Tendo em vista que o ácido cafeico é um composto bioativo, assim como, os álcoois monoterpênicos, com várias propriedades biológicas reportadas na literatura, a técnica de hibridação molecular foi utilizada com o objetivo de potencializar os possíveis efeitos farmacológicos. Logo, os cafeatos monoterpênicos são ésteres resultantes da reação de esterificação entre o ácido cafeico e os álcoois monoterpênicos (Figura 6).

Figura 6 - Equação representativa da hibridação molecular do ácido cafeico (1) com o cicloexanol (7).

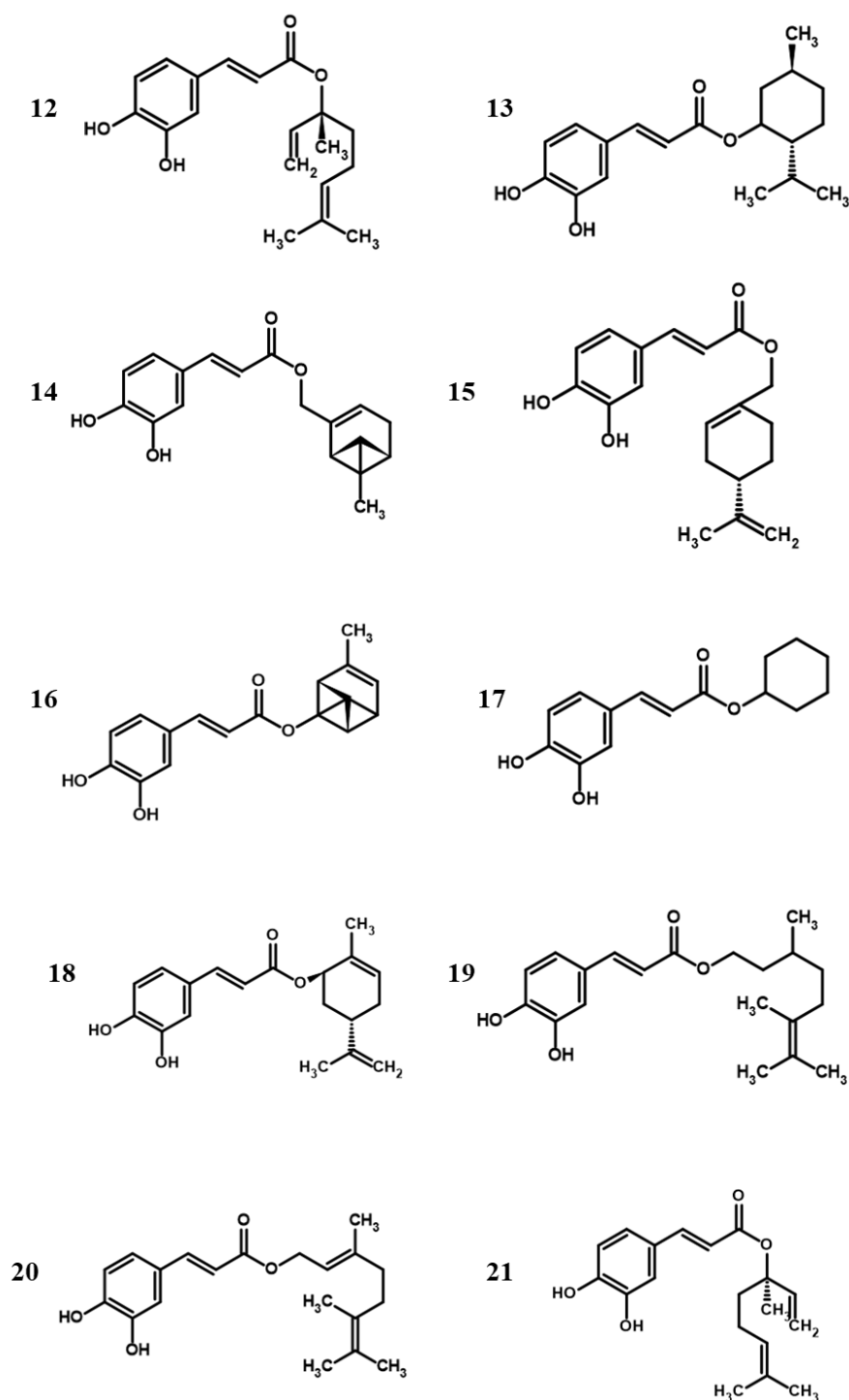


Fonte: Autoria própria (2021).



Desse modo, os ésteres idealizados pela estratégia de hibridação molecular e avaliados neste trabalho são: cafeato de (+)-linalila (**12**), cafeato de mentila (**13**), cafeato de mirtenila (**14**), cafeato de perilila (**15**), cafeato de verbenila (**16**), cafeato de cicloexila (**17**), cafeato de carveoila (**18**), cafeato de citronelila (**19**), cafeato de geranila (**20**) e cafeato de (-)-linalila (**21**) (Figura 7).

Figura 7 - Representação dos cafeatos monoterpênicos (12-21) avaliados neste trabalho.



Fonte: Autoria própria (2021).

## 4.2 Ferramentas computacionais de farmacologia *in silico*

A primeira ferramenta utilizada neste trabalho foi o *ACD/ChemSketch* que possibilitou a geração de códigos *SMILES* (*Simplified Molecular Input Line Entry Specification*) por meio das estruturas moleculares dos compostos. Esses códigos foram usados como entrada nos demais programas da farmacologia *in silico*, assim, em seguida, avaliou-se as propriedades moleculares e bioatividades dos compostos avaliados no presente trabalho, bem como, a avaliação de suas propriedades *ADMET* (absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade). Ademais, realizou-se o estudo de ancoragem molecular e a predição dos metabólitos dos cafeatos monoterpênicos e suas toxicidades.

### 4.2.1 Modelagem das estruturas moleculares

O *ACD/ChemSketch* (<https://www.acdlabs.com/resources/freeware/chemsketch/>) é um *software* gratuito que é mantido pela empresa *ACD/Labs*. Por meio desse programa foi possível desenhar as estruturas moleculares dos compostos avaliados no presente trabalho, a partir da estrutura molecular de cada composto foi gerado um código *SMILES*, que foi usado como dado de entrada na maior parte dos programas de farmacologia *in silico*. Ademais, o programa possibilita a compilação das moléculas no formato “.mol”, extensão reconhecida pelos programas de *docking molecular*, como o *iGEMDOCK*, ferramenta utilizada neste trabalho.

### 4.2.2 Predição de propriedades moleculares e bioatividades

O *Molinspiration* (<https://www.molinspiration.com/>) é uma ferramenta *online*, e foi utilizada para avaliar propriedades moleculares associadas à biodisponibilidade oral, cuja probabilidade de ocorrência é indicada pela regra dos cinco de Lipinski a partir da avaliação de cinco parâmetros: a) Coeficiente de partição octanol-água (miLogP) que deve ser menor ou igual a 5; b) MM (massa molar) que deve ser menor ou igual a 500 g/mol; c) TPSA (área de superfície topológica polar) menor ou igual a 140 Å<sup>2</sup>; d) nALH (número de grupos receptores de ligação de hidrogênio) menor ou igual a 10; e) nDLH (número de grupos doadores de ligação de hidrogênio) menor ou igual a 5 (LIPINSKI *et al.*, 2001). Além disso, foi avaliado a potencialidade das substâncias **1-21** atuarem como ligante GPCR, modulador de canal iônico, inibidor de quinase, ligante de receptor nuclear, inibidor de protease e inibidor de enzima. O

método utilizado para calcular a potencialidade de uma substância possuir umas das bioatividades mencionadas usa estatísticas Bayesianas sofisticadas para comparar estruturas de ligantes ativos no alvo em particular com estruturas de moléculas inativas e identificar características da subestrutura (que por sua vez determinam propriedades físico-químicas) típicas de moléculas ativas (RATHGEBER, ZÜCHNER& BURCHARDI, 1996).

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

#### 4.2.3 Estudo de Ancoragem Molecular

O *iGEMDOCK* foi utilizado para realizar o estudo de ancoragem molecular frente a enzima mais frequente apontada pelo *Swiss Target Prediction*. Trata-se de uma ferramenta de acesso livre que permite estudar as interações farmacológicas, que são úteis para entender os mecanismos de ligação de ligantes à um alvo terapêutico. Segundo estudos realizados pelos desenvolvedores da ferramenta, a taxa de sucesso do *iGEMDOCK* é de 78% considerando uma amostra de 305 complexos de proteínas e seus respectivos ligantes cristalográficos retirados do banco de dados *Protein Data Bank* (YANG; CHEN, 2004; YANG, 2018).

Após o *docking* molecular o *UCSF Chimera* 1.10.1 foi utilizado para avaliar visualmente as interações enzima-ligantes resultantes de estudos de ancoragem molecular (PETTERSEN *et al.*, 2004).

#### 4.2.4 Predição de propriedades farmacocinéticas

O *admetSAR 2.0* (<http://lmmd.ecust.edu.cn/admetSar2>) foi utilizado para prever parâmetros farmacocinéticos relacionados à absorção, distribuição, metabolismo e toxicidade (YANG *et al.*, 2018).

#### 4.2.5 Predição de metabólitos e suas toxicidades

Além de avaliar a toxicidade dos compostos pelo *admetSAR 2.0*, o *Meta Tox* (<http://way2drug.com/mg2/>) foi utilizado para avaliar a toxicidade dos metabólitos gerados a partir dos cafeatos alcoólicos apontados como possíveis candidatos à fármacos.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Avaliação de propriedades moleculares e bioatividades

As propriedades moleculares do ácido cafeico, dos álcoois monoterpênicos e dos híbridos idealizados foram calculadas na ferramenta *Molinspiration* (Tabela 1). Lipinski *et al.* (2001) concluíram que a análise de propriedades moleculares (miLogP, TPSA, MM, nALH, nDLH) é imprescindível para avaliar a biodisponibilidade oral de candidatos à fármacos, visto que esses parâmetros estão associados à permeabilidade dos compostos em membranas celulares.

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

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

Fonte: Autoria própria (2021).

A partir da análise dos dados disponíveis na Tabela 1 observa-se que não houve nenhuma violação à regra dos cinco de Lipinski *et al.* (2001), ou seja, para cada composto avaliado, o coeficiente de partição octanol-água (LogP) foi menor que 5; a massa molar (MM) foi menor que 500 g/mol; a área de superfície topológica polar (TPSA) foi menor que 140 Å<sup>2</sup>; nALH (número de grupos receptores de ligação de hidrogênio) foi menor que 10; e) nDLH (número de grupos doadores de ligação de hidrogênio) foi menor que 5. Desse modo, tratando-se dos parâmetros de Lipinski *et al.* (2001) é provável que os compostos avaliados apresentem boa biodisponibilidade oral, uma vez que possuem propriedades moleculares condizentes com fármacos de administração oral.

Em relação aos dados obtidos na ferramenta *Molinspiration*, avaliou-se também as bioatividades para os compostos. Considera-se que a atividade biológica é medida pelo escore de bioatividade, categorizado em três faixas diferentes: (i) se o escore de bioatividade for maior que 0,00, a substância avaliada possui atividade biológica considerável; (ii) se o escore de bioatividade for de -0,5 a 0,00, a substância avaliada possui atividade moderada; (iii) se o escore de bioatividade for menor que -0,50, a substância avaliada é inativa (VERMA, 2012). Os resultados de predição de bioatividades para os compostos **1-21** são apresentados na Tabela 2.

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

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

Fonte: Autoria própria (2021).

A partir dos escores apresentados na Tabela 2 observa-se que dois modelos de bioatividades (ligante de receptor nuclear e inibidor de enzima) apresentaram resultados promissores para os cafeatos monoterpênicos. Vale destacar que os receptores nucleares são expressos em numerosos tipos de células estromais e parenquimatosas, cujos papéis fisiológicos sugerem potencial terapêutico no contexto do microambiente reativo do tumor (RIGGINS *et al.*, 2010). Segundo Sherman, Downes e Evans (2012) há evidências de que a inflamação, angiogênese e fibrose associadas ao tumor podem ser moduladas no nível transcricional pelos receptores nucleares e seus ligantes. Como esses processos têm sido amplamente implicados na iniciação, progressão e resistência ao câncer, os ligantes de receptores nucleares direcionados ao microambiente do tumor podem ser agentes antitumorais potentes em combinação com quimioterapia (SHERMAN; DOWNES; EVANS, 2012).

Inibidores de enzimas são substâncias que se ligam às enzimas com a consequente perda de atividade, sem danificar a estrutura proteica da enzima. Os inibidores exercem seu efeito diminuindo a afinidade da enzima pelo substrato, diminuindo a quantidade de enzima ativa disponível para a catálise ou por uma combinação desses efeitos. Diferentes categorias de inibidores são conhecidas: (i) *Inibidores irreversíveis* - são compostos que se ligam covalentemente a grupos específicos na superfície da proteína, impedindo a ligação e a catálise da reação; (ii) *Inibidores competitivos* - são compostos, geralmente, semelhantes estruturalmente ao substrato e podem, assim, competir com o substrato pelo sítio ativo da enzima; (iii) *Inibidores não competitivos* - são substâncias que geralmente são estruturalmente não relacionadas ao substrato, se ligam reversivelmente a grupos distantes do sítio ativo da enzima e são, portanto, menos específicas que os inibidores competitivos (ROBERTS; GIBB, 2012). Entre as três categorias mencionadas, o *iGEMDOCK*, ferramenta que foi utilizada para realização de estudos de ancoragem molecular, permite avaliar apenas a segunda categoria, na qual a inibição enzimática se dá a partir da interação da molécula avaliada com o sítio ativo da enzima.

Tanto ligantes de receptores nucleares quanto inibidores de enzimas constituem um grupo de compostos de interesse farmacológico, já que esses alvos estão associados a diferentes patologias, não se limitando somente ao câncer. Assim, substâncias capazes de interagir com esses bioreceptores podem desencadear diferentes respostas terapêuticas. A maior parte dos cafeatos alcoólicos apresenta atividade para esses alvos, demonstrando, de forma geral, que tais compostos tem potenciais farmacológico. A fim de delinear melhor os alvos terapêuticos, deu-se continuidade ao estudo no *Swiss Target Prediction*.

A partir dos resultados obtidos na ferramenta *Swiss Target Prediction*, constatou-se que a maioria dos híbridos idealizados apontaram significativamente para a inibição da enzima 17-beta-desidrogenase 2, principalmente os híbridos **12**, **13**, **14**, **17** e **21**. A enzima 17-beta-desidrogenase 2, atua na conversão da estrona em estradiol, que é o hormônio mais importante para o metabolismo feminino, pois é responsável pelo crescimento de diversos tecidos, inclusive, pelo crescimento de tumores na mama (FARIA, 2014).

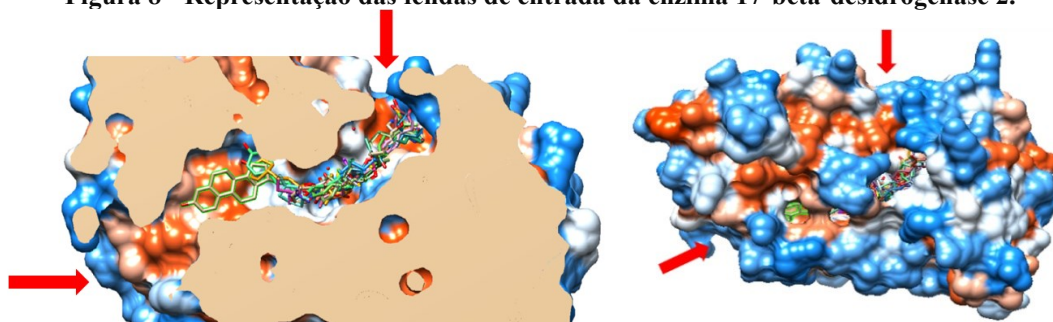
Observa-se que existe uma convergência dos resultados obtidos nas ferramentas *Molinspiration* e *Swiss Target Prediction* indicando dois alvos associados ao câncer de mama, o receptor nuclear e a enzima 17-beta-desidrogenase 2. O envolvimento de receptores nucleares na patogênese do câncer de mama tem sido amplamente reportado na literatura, o que faz com que esses receptores tenham utilidade prognóstica e sejam alvos terapêuticos no contexto do câncer de mama (KITTLER *et al.*, 2013; RIGGINS *et al.*, 2010).

Dessa forma, os resultados obtidos nas ferramentas *Molinspiration* e *Swiss Target Prediction* indicam que alguns dos cafeatos monoterpênicos possuem potencial para atuarem como fármacos para o tratamento do câncer de mama. Neste sentido, se as propriedades ADMET (absorção, distribuição, metabolismo e toxicidade) desses compostos forem adequadas, e se os compostos ancorarem no sítio ativo da enzima, os mesmos possuirão potencial de inibição da enzima 17-beta-desidrogenase 2, ou seja, serão promissores candidatos à fármacos com bioatividade anticancerígena, mais especificamente, para o tratamento do câncer de mama.

## 5.2 Estudo de ancoragem molecular frente à enzima 17-beta-desidrogenase 2

O estudo de ancoragem molecular foi realizado na ferramenta *iGEMDOCK* e os resultados obtidos para a interação enzima-ligante foram analisados na ferramenta *UCSF Chimera*. A partir da análise das interações enzima-ligantes, por meio da ferramenta *Chimera*, pode-se observar que a enzima possui duas fendas (de tamanhos diferentes), que permitem a entrada de compostos para o interior da enzima, formando um canal dentro da mesma que dá acesso ao sítio ativo (Figura 8).

**Figura 8 - Representação das fendas de entrada da enzima 17-beta-desidrogenase 2.**

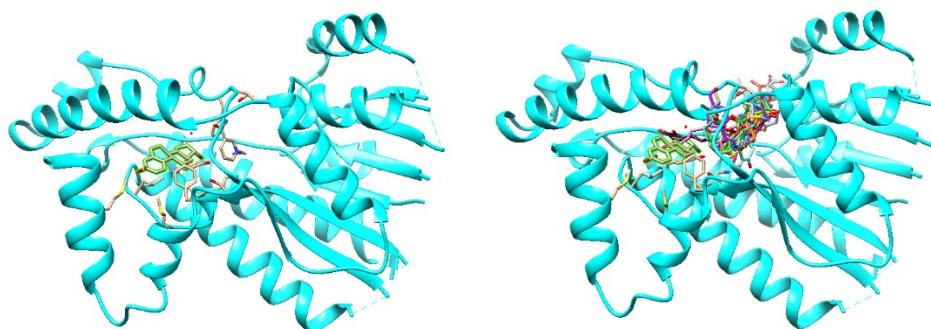


Fonte: Autoria própria (2021).

O sítio ativo da enzima 17-beta-desidrogenase 2 (PDB: 1A27) localiza-se próximo à fenda menor e é envolto pelos seguintes resíduos de aminoácidos: Tyr155, Ser142, Val225, Val143, Leu149 (BRETON *et al.*, 1996). Na Figura 9(a) é representado o ligante natural ancorado no sítio ativo da enzima, e a Figura 9(b) mostra todos os compostos avaliados ancorados na enzima.

**Figura 9 - (a) Enzima 17-beta-desidrogenase 2 com seu ligante natural; (b) Representação dos compostos 1-21 ancorados na enzima 17-beta-desidrogenase 2.**

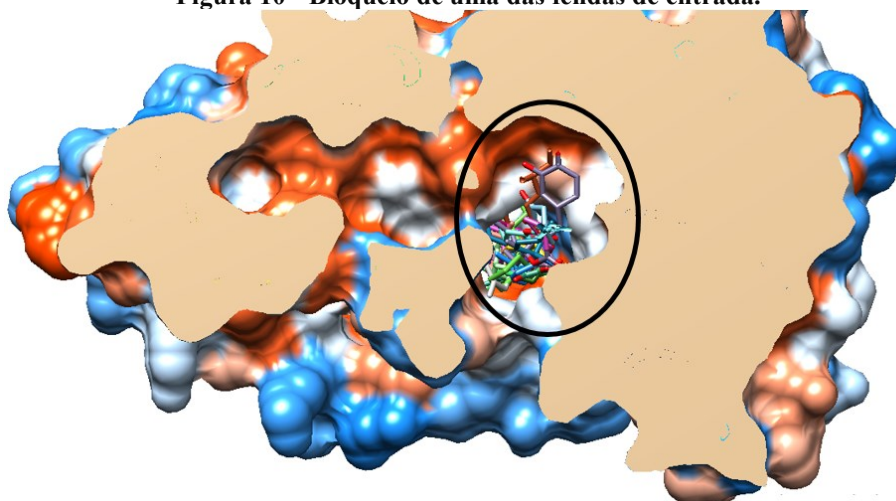




Fonte: A autoria própria (2021).

Pode-se observar que todos os compostos avaliados se encontram ancorados no canal que está localizado o sítio ativo, mas a maioria desses estão mais próximos à fenda maior, que está mais distante do sítio ativo, logo tais interações podem não resultar em inibição enzimática. No entanto, observa-se que esses compostos formam um bloqueio no canal de acesso ao sítio ativo por essa fenda (destacado em preto na Figura 10). Caso o estradiol entre por esta fenda, esses compostos podem então ter potencial para inibir a ação da enzima. Entretanto, são necessários estudos adicionais acerca do mecanismo de ação dessa enzima, pois não há registros na literatura da entrada do ligante natural por uma fenda alternativa.

Figura 10 - Bloqueio de uma das fendas de entrada.



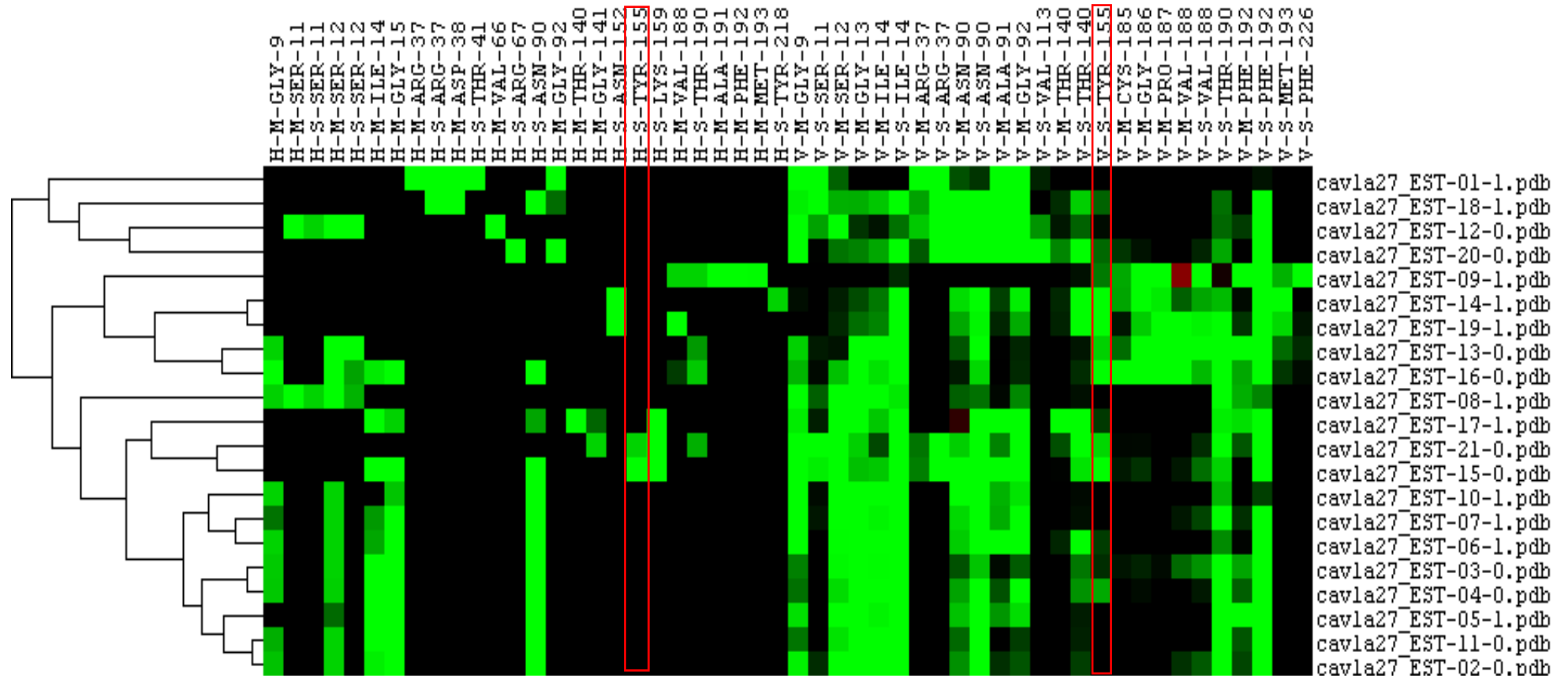
Fonte: A autoria própria (2021).

A partir do estudo de ancoragem molecular no *IGEMDOCK*, verificou-se que os compostos **14** e **19** ancoraram-se no sítio ativo da enzima, interagindo com o resíduo de aminoácido Tyr 155. Isso pôde ser confirmado, além da análise gráfica no *Chimera*, pelo dendrograma gerado pelo *software* (Figura 11).

O dendrograma representa a interação dos compostos com os resíduos de aminoácidos em ordem hierárquica, logo, dos compostos que apresentaram maior interação para os de menor interação (Figura 11). Assim, pode-se verificar os compostos **19** e **14** interagindo com resíduos

de aminoácidos presentes no sítio da ativo da enzima de interesse (Tyr 155). Como já apontado anteriormente, os demais compostos apresentam interações que ocorrem afastadas do sítio ativo da enzima (Figura 11), contudo isso não descarta a possibilidade de inibição dessas enzimas, conforme discutido anteriormente.

Figura 11 - Dendrograma: agrupamento hierárquico das interações dos compostos com os resíduos de aminoácidos da proteína 17-beta-desidrogenase 2.



Fonte: Autoria própria (2021).

Os cafeatos monoterpênicos apresentaram energia de interação com a enzima 17-beta-desidrogenase 2 maior que a dos álcoois monoterpênicos e que do ácido cafeico (Tabela 3). Assim como esperado, a hibridação molecular resultou em um aumento da interação enzima-ligante, uma vez que há um aumento no número de interações intermoleculares. Os compostos que se ancoraram no sítio ativo (**14** e **19**) apresentaram energia de interação de  $-98,61 \text{ kcal.mol}^{-1}$  e  $-100,91 \text{ kcal.mol}^{-1}$ , respectivamente.

Diante disso, considerando a interação efetiva dos compostos **14** e **19** no sítio ativo da enzima 17-beta-desidrogenase 2 e as energias favoráveis de interação enzima-ligante, ambos compostos demonstraram, *in silico*, potencial para inibir essa enzima.

**Tabela 3 - Energias de interação enzima-ligante, em  $\text{kcal.mol}^{-1}$ , obtidas do estudo de ancoragem molecular.**

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

Fonte: Aatoria própria (2021).

### 5.3 Propriedades farmacocinéticas

As propriedades farmacocinéticas dos compostos **1-21** foram avaliadas utilizando a ferramenta *admetSAR* 2.0 (Tabela 4). A partir da análise dos resultados apresentados na Tabela 3, observa-se que o ácido cafeico não permeia as células intestinais do tipo Caco-2, enquanto nove dos dez álcoois monoterpênicos a permeiam. Em relação aos cafeatos monoterpênicos, apenas os compostos **13**, **19** e **20** apresentaram resultados positivos para este parâmetro. Desse modo, ainda que a maioria dos cafeatos monoterpênicos apresentaram resultados negativos quanto à absorção

intestinal, estudos adicionais serão necessários para verificar se algum problema de absorção será observado para esses híbridos. Ademais, os compostos podem ser absorvidos pelo estômago ou ainda, podem ser administrados por outra via, como por exemplo, por via intravenosa, que coloca o fármaco diretamente na corrente sanguínea para posteriormente ser distribuído.

Observou-se que todos os compostos avaliados apresentaram resultados negativos para o parâmetro de inibição e substrato da glicoproteína-P, proteína presente na membrana celular, responsável por expulsar substâncias tóxicas e xenobióticas para o exterior da célula. A glicoproteína P (P-gp) é uma das principais proteínas transportadoras e está envolvida em muitos processos essenciais, como transporte de lipídios e esteroides através das membranas celulares, mas também na captação de medicamentos como inibidores da HIV protease e da transcriptase reversa (WANG *et al.*, 2011). Dessa forma, caso algum composto apresentasse resultado positivo para ser substrato da glicoproteína-P, ele seria expulso pela mesma, ou seja, não permearia a célula.

Observou-se que a maioria dos compostos avaliados, exceto o composto **10**, não inibem as isoformas do citocromo CYP 450, que no contexto do presente estudo é vantajoso visto que elas atuam na metabolização de substâncias xenobióticas. Muitos dos efeitos colaterais adversos das interações medicamentosas ocorrem devido a inibição do citocromo CYP 450, o que torna esse parâmetro um importante modelo a ser avaliado durante a fase de pesquisa e desenvolvimento de novos fármacos. A ferramenta admetSAR realiza cálculos para as cinco principais isoformas do CYP, a saber 1A2, 2C9, 2C19, 2D6 e 3A4 (CHENG *et al.*, 2011).

Em relação ao parâmetro de toxicidade oral aguda, calculado a partir do algoritmo desenvolvido por Zu *et al.* (2009), observou-se que os compostos avaliados apresentaram resultados entre os graus III ( $500 \text{ mg/kg} < \text{LD}_{50} \leq 5000 \text{ mg/kg}$ ) e IV ( $\text{LD}_{50} > 5000 \text{ mg/kg}$ ), ou seja, apresentaram baixa toxicidade. A toxicologia de fármacos é uma das áreas cruciais da pesquisa pré-clínica. A avaliação da toxicidade é uma das principais causas de desgaste em todas as etapas do desenvolvimento de fármaco, o que justifica a realização de estudos *in silico* de candidatos a fármacos nos vários modelos de toxicidade disponíveis em diferentes ferramentas computacionais. Como bem reportado na literatura, o efeito mutagênico tem uma estreita relação com a carcinogenicidade (XU *et al.*, 2012). Em relação à mutagenicidade e carcinogenicidade, observou-se que os compostos avaliados apresentaram resultados negativos para o modelo de mutagenicidade, e apenas o composto **8** apresentou resultado positivo para o modelo de carcinogenicidade. Conclui-se desta forma, considerando todos os modelos de toxicidade, que os cafeatos monoterpênicos possuem baixa ou nula toxicidade.

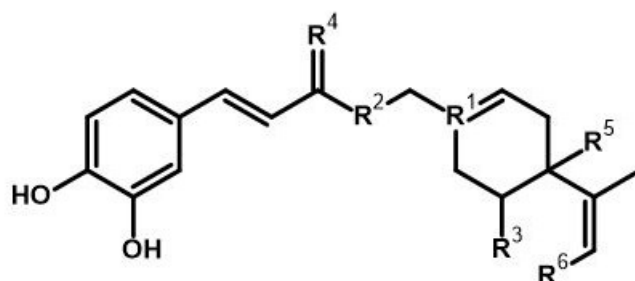
Tabela 4 - Propriedades farmacocinéticas, determinadas na ferramenta admetSAR, dos compostos 1-21.

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

Fonte: Autoria própria (2021).

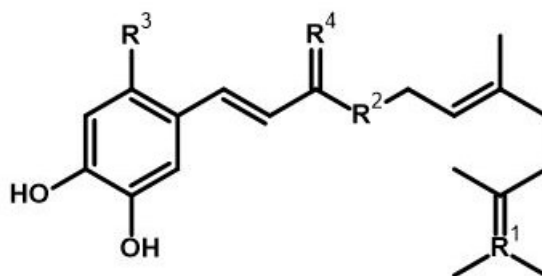
Apesar das propriedades farmacocinéticas desses compostos, como a toxicidade, serem adequadas para possíveis candidatos a fármacos, há a possibilidade de os metabólitos serem mais nocivos do que seus precursores. Portanto, é importante que esses metabólitos sejam avaliados. Na ferramenta *MetaTox* observou-se seis possíveis metabólitos para o cafeato de mirtenila e quatro para o de citronelila. Nas Figuras 11 e 12 estão representados os pontos de metabolização para os dois cafeatos citados. Assim, nos pontos de metabolização de 1 a 6 do cafeato de mirtenila ocorrem as seguintes reações: (1) R<sup>1</sup>: Epoxidação; (2) R<sup>2</sup>: Hidrólise; (3) R<sup>3</sup>: Oxidação; (4) R<sup>4</sup>: Hidrogenação; (5) R<sup>5</sup>: Hidroxilação alifática e (6) R<sup>6</sup>: Glutacionação. De forma semelhante, os metabólitos de 1 a 4 do cafeato de citronelila sofrem as quatro primeiras reações.

Figura 11 - Representação do cafeato de mirtenila com indicação dos grupos que sofrem metabolização (R<sup>1</sup> a R<sup>6</sup>).



Fonte: Autoria própria (2021).

Figura 12 - Representação do cafeato de citronelila com indicação dos grupos que sofrem metabolização (R<sup>1</sup> a R<sup>6</sup>).



Fonte: Autoria própria (2021).

A Tabela 5 expõe o grau de toxicidade dos metabólitos de acordo com as reações que sofrem, desse modo, os metabólitos produtos da hidrólise dos cafeatos de mirtenila e de citronelila apresentaram toxicidade II e III, respectivamente. Portanto, de acordo com esses graus de toxicidade ambos metabólitos apresentam nocividade à saúde. Assim, a dose terapêutica deve ser adequada a este parâmetro de toxicidade. Ademais, nenhum outro

metabólito apresentou algum nível de toxicidade.

**Tabela 5 - Toxicidade oral aguda dos metabólitos formados a partir dos cafeatos de mirtenila e de citronelila.**

Metabólito	Reação	Cafeato de mirtenila	Cafeato de citronelila
		Toxicidade Oral (mg/kg)	
<b>1</b>	Epoxidação	3.385,76	3.251,82
<b>2</b>	Hidrólise	254,40	515,27
<b>3</b>	Oxidação	1.819,76	3.255,42
<b>4</b>	Hidrogenação	1.853,49	3.223,58
<b>5</b>	Hidroxilação Alifática	1.544,03	-
<b>6</b>	Glutationação	23.745,82	-

**Fonte: Autoria própria (2021).**



## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir da análise dos dados obtidos no *Molinspiration* observa-se que não houve nenhuma violação à regra dos cinco de Lipinski *et al.* (2001), desse modo, é provável que os compostos avaliados apresentem boa biodisponibilidade oral, uma vez que possuem propriedades moleculares condizentes com fármacos de administração oral. Além disso, o *Molinspiration* indicou potencial farmacológico para os compostos, e os resultados obtidos na ferramenta *Swiss Target Prediction* indicaram que a maioria dos híbridos idealizados apontaram significativamente para a inibição da enzima 17-beta-desidrogenase 2, principalmente os híbridos **12**, **13**, **14**, **17** e **21**. As propriedades ADMET dos compostos foram avaliadas, e apresentaram resultados negativos para o parâmetro de inibição e substrato da glicoproteína-P, observou-se também que a maioria dos compostos avaliados, exceto o composto **10**, não inibem as isoformas do citocromo CYP 450. Em relação à mutagenicidade e carcinogenicidade, observou-se que os compostos avaliados apresentaram resultados negativos para o modelo de mutagenicidade, e apenas o composto **8** apresentou resultado positivo para o modelo de carcinogenicidade, desse modo, constata-se uma baixa ou nula toxicidade para os compostos. Assim, os compostos apresentaram parâmetros ADMET condizentes para candidatos à fármacos.

Com o *docking molecular* observou-se que todos os compostos avaliados se encontravam ancorados no canal que está localizado o sítio ativo da enzima. A enzima possui duas fendas de acesso ao sítio ativo e a maioria dos compostos ficaram mais próximos à fenda maior, que está mais distante do sítio ativo, logo tais interações podem não resultar em inibição enzimática. Ademais, verificou-se que os compostos **14** e **19** ancoraram-se no sítio ativo da enzima, interagindo com o resíduo de aminoácido Tyr 155, isso pôde ser confirmado pelo dendrograma gerado no *software*.

Assim, de acordo com os resultados obtidos, os cafeatos de mirtenila e citronelila apresentaram como potencial alvo de inibição a enzima 17-beta-desidrogenase 2 mediante ancoragem em seu sítio ativo e propriedades farmacocinéticas condizentes para candidatos à fármacos. A enzima 17-beta-desidrogenase 2, atua na conversão da estrona em estradiol, e é responsável pelo crescimento de tumores na mama, indicando assim, que sua inibição é alvo de pesquisa e desenvolvimento de novos agentes antineoplásicos que atuarão no tratamento do câncer de mama.

## REFERÊNCIAS

- ANI, V.; VARADARAJ, M. C.; AKHILENDER-NAIDU, K. Antioxidant and antibacterial activities of polyphenolic compounds from bitter cumin (*Cuminum nigrum* L.). **European Food Research and Technology**, v. 224, p. 109-115, 2006.
- ASSIS, D. B. **Efeito antinociceptivo do fenilpropanóide 2-alilfenol**. 2018. 81f. (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos). Centro de Ciência da Saúde da Universidade Federal de Paraíba, João Pessoa, Paraíba, 2018.
- BARBOSA-FILHO, J. M. **Farmacognosia: Da Planta ao Medicamento**. Florianópolis: Editora da UFSC, 6ª ed., cap. 22, p. 557-575, 2010.
- BARREIRO, E. J. A importância da síntese de fármacos na produção de medicamentos. **Química Nova**, v. 14, p. 179-189, 1991.
- BORGES, F. V. P. **Síntese de ésteres fenilpropanóicos de álcoois monoterpênicos**. 2014. 92f. Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos). Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Paraíba, 2014.
- BOSQUESI, P. L. *et al.* Anti-inflammatory drug design using a molecular hybridization approach. **Pharmaceuticals**, v. 4, n. 11, p. 1450-1474, 2011.
- BRAY, F. *et al.* Estatísticas globais de câncer 2018: estimativas GLOBOCAN de incidência e mortalidade em todo o mundo para 36 cânceres em 185 países. **CA: um jornal sobre câncer para médicos**, v. 68, n. 6, pág. 394-424, 2018.
- BRETON, R., HOUSSET, D., MAZZA, C., & FONTECILLA-CAMPS, J. C. 1996. The structure of a complex of human 17 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase with estradiol and NADP<sup>+</sup> identifies two principal targets for the design of inhibitors. **Structure**, 48, 905-915. <https://doi.org/10.1016/s0969-21269600098-6>.
- COELHO, M. L. *et al.* Formulações farmacêuticas contendo monoterpênicos: uma prospecção tecnológica. **REVISTA GEINTEC-GESTAO INOVACAO E TECNOLOGIAS**, v. 3, n. 3, p. 058-065, 2013.
- CHEN, Y.F.; TSAI, H.Y.; WU, T.S. Anti-inflammatory and analgesic activities from roots of *Angelica pubescens*. **Journal of Medicinal and Natural Product Research**, v. 61, n. 1, p. 2-8, 2007.
- CHENG, F., YU, Y., SHEN, J., YANG, L., LI, W., LIU, G., LEE, P. W., & YUN TANG. 2011. Classification of cytochrome P450 inhibitors and noninhibitors using combined classifiers. **J. Chem. Inf. Model.**, 515, 996-1011. <https://doi.org/10.1021/ci200028n>.
- EKINS, S.; MESTRES, J.; TESTA, B. In silico pharmacology for drug discovery: applications to targets and beyond. **British Journal of Pharmacology**, v. 152, n. 1, p. 21-37, 2007.
- FARIA, D. A. G. Inibidores da 17 $\beta$ -Hidroxiesteróide Desidrogenase e Terapia do Câncer de Mama, 2004, 32f. **Monografia Mestrado em Ciências Farmacêuticas Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra**, Coimbra, 2014.

FERLAY, J. *et al.* Estimando a incidência global de câncer e mortalidade em 2018: fontes e métodos GLOBOCAN. **Jornal internacional do câncer**, v. 144, n. 8, pág. 1941-1953, 2019.

FUNASAKI, M. **Estruturas, atividade biológica e biossíntese de metabólitos secundários de *Ocotea catharinensis* Mez. Lauraceae.** 2006. 147f. Tese (Doutorado em Química) Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

GFELLER, D.; GROSDIDIER, A.; WIRTH, M.; DAINA, A.; MICHIELIN, O.; ZOETE, V. Swiss Target Prediction: a web server for target prediction of bioactive small molecules. **Nucleic Acids Research**, v. 42, p. W32-W38, 2014.

Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. **A situação do câncer de mama no Brasil: síntese de dados dos sistemas de informação.** / Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. – Rio de Janeiro: INCA, 2019.

Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva, 2020. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/o-que-e-cancer>. Acesso em 30 de novembro de 2021.

Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva, 2020. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/tipos-de-cancer/cancer-de-mama>. Acesso em 30 de novembro de 2021.

IUPAC - INTERNATIONAL UNION OF PURE AND APPLIED CHEMISTRY. IUPAC Glossary of Terms Used in Toxicology. **Pure and Applied Chemistry**, v. 79, n. 7, p. 1153-1344, 2007.

KANG, N. J. *et al.* Caffeic acid, a phenolic phytochemical in coffee, directly inhibits Fyn kinase activity and UVB-induced COX-2 expression. **Carcinogenesis**, v. 30, n. 2, p. 321-330, 2009.

KITTLER, R., ZHOU, J., HUA, S., MA, L., LIU, Y., PENDLETON, E., CHENG, C., GERSTEIN, M., & WHITE, K. P. 2013. **A comprehensive nuclear receptor network for breast cancer cells.** **Cell Reports**, 32, 538-551. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2013.01.004>.

LIPINSKI, C. A.; LOMBARDO, F.; DOMINY, B. W.; FEENEY, P. J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 46, n. 1-3, p. 3-26, 2001.

MODA, T. L. **Desenvolvimento de modelos *in silico* de propriedades ADME para tiragem de novos candidatos a fármacos.** 2007. 97 f. Dissertação (Mestrado em Física Biomolecular) - Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2007.

MUNIZ, H. S. **Métodos híbridos em docagem molecular: implementação, validação e aplicação,** 2018. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

ORTEGA, S. S.; CARA, L. C. L.; SALVADOR, M. K. In silico pharmacology for a multidisciplinary drug discovery process. **Drug Metabolism and Drug Interactions**, v. 27, n. 4, p. 199-207, 2012.

PETTERSEN, E. F.; GODDARD, T. D.; HUANG, C. C.; COUCH, G. S.; GREENBLATT, D. M.; MENG, E. C.; FERRIN T. E. *UCSF Chimera* - a visualization system for exploratory research and analysis. **Journal of Computational Chemistry**, v. 25, n. 13, p. 1605-1612, 2004.

PINTO-ZERVALOS, D. M.; MARTINS, C. B. C.; PELLEGRINO, A. C.; ZARBIN, P. H. G. Compostos orgânicos voláteis na defesa induzida das plantas contra insetos. **Química Nova**, v. 36 n. 9, p. 1395-1405, 2013.

RATHGEBER, J., ZÜCHNER, K. & BURCHARDI, H. Conditioning of air in mechanically ventilated patients. In: **Yearbook of intensive care and emergency medicine**. Springer, Berlin, Heidelberg, 1996. p. 501-519.

RIGGINS, R. B., MAZZOTTA, M. M., MANIYA, O. Z. & CLARKE, R. 2010. Orphan nuclear receptors in breast cancer pathogenesis and therapeutic response. **Endocrine-Related Cancer**, 17, R213- R231. <https://doi.org/10.1677/ERC-10-0058>.

ROBBINS, S. L.; CROATAN, R. S.; FAUSTO, N.; ABBAS, A. K.; KUMAR, V. **Bases Patológicas das Doenças**. 7ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2005.

ROBERTS, S. M., & GIBB, A. J. 2013. Introduction to enzymes, receptors and the action of small molecule drugs. Chapter 1, pp. 1-55. **Waltham: Elsevier**. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-397176-0.00001-7>.

SANTOS, R. I. **Farmacognosia: Da Planta ao Medicamento**. Florianópolis, SC, 2010: Editora da UFSC, 6ª ed., cap. 16, p. 403-434, 2010.

SHERMAN, M. H., DOWNES, M., & EVANS, R. M. 2012. Nuclear receptors as modulators of the tumor microenvironment. **Cancer prevention research**, 51, 3-10. <https://doi:10.1158/1940-6207.CAPR-11-0528>.

SIANI, A. C.; SAMPAIO, A. L. F.; SOUSA, M. C.; HENRIQUES, M. G.M. O.; RAMOS, M. F. S. Óleos essenciais: potencial anti-inflamatório. **Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento**, v. 3, n. 16, p. 38-43, 2000.

SILVA, N. C. C. **Estudo comparativo da ação antimicrobiana de extratos e óleos essenciais de plantas medicinais e sinergismo com drogas antimicrobianas**. 2010. 69 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Geral) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2010.

SOUSA, V. A.; NAKAMURA, C. V.; CORRÊA, A. G. Atividade anti-chagásica de lignanas e neolignanas. **Revista Virtual de Química**, v. 4, n. 3, p. 100-107, 2012.

SOVA, M. Antioxidant and antimicrobial activities of cinnamic acid derivatives. **Mini Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 12, n. 8, p. 749-67, 2012.

STIEVEN, A. C.; MOREIRA, J. J. S.; SILVA, C. F. Óleos essenciais de uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambess): avaliação das atividades microbiana e antioxidante. **Eclética Química**, Araraquara, v. 34, n. 3, p. 7-13, 2009.

VERMA, A. (2012). Descoberta de chumbo de *Phyllanthus debelis* com potenciais hepatoprotetores. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, 2 (3), S1735 – S1737. doi: 10.1016 / s2221-1691 (12) 60486-9.

VIEGAS-JUNIOR, C. *et al.* Molecular hybridization: a useful tool in the design of new drug prototypes. **Current medicinal chemistry**, v. 14, n. 17, p. 1829-1852, 2007.

VIEGAS JR, C.; BOLZANI, V. S.; BARREIRO, E. J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Química Nova**, v. 29, n. 2, p. 326-337, 2006.

WANG, Z., CHEN, Y., LIANG, H., BENDER, A., GLEN, R. C., & YAN, A. 2011. P-glycoprotein substrate models using support vector machines based on a comprehensive data set. **Journal of Chemical Information and Modeling**, 516, 1447-1456. <https://doi.org/10.1021/ci2001583>.

YAMADA, J.; TOMID, Y. Antimutagenic activity of caffeic acid and related compounds. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, v. 60, n. 2, p. 328-329, 1996.

YANG, H.; LOU, C.; SUN, L.; LI, J.; CAI, Y.; WANG, Z.; LI, W.; LIU, G.; TANG, Y. admetSAR 2.0: web-service for prediction and optimization of chemical ADMET properties. **Bioinformatics**, v. 35, n. 6, p. 1067-1069, 2018.

YANG, J.-M.; CHEN, C.-C. GEMDOCK: A generic evolutionary method for molecular docking. **Proteins: Structure, Function and Bioinformatics**, v. 55, n. 2, p. 288-304, 2004.