

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE QUÍMICA  
CURSO DE LICENCIATURA EM QUÍMICA

JOÃO PEDRO DE ALBUQUERQUE SOUZA

**ESTUDO DE ANCORAGEM MOLECULAR DE DERIVADOS  
DE ÁCIDO CINÂMICO FRENTE À ENZIMAS DO CICLO  
REPLICATIVO DO HIV-1**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

CAMPO MOURÃO

2015

JOÃO PEDRO DE ALBUQUERQUE SOUZA

**ESTUDO DE ANCORAGEM MOLECULAR DE DERIVADOS  
DE ÁCIDO CINÂMICO FRENTE À ENZIMAS DO CICLO  
REPLICATIVO DO HIV-1**

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 Licenciado em Química.

Orientador: Prof. Msc. Adriano Lopes Romero

CAMPO MOURÃO

2015



Ministério da Educação  
**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ**  
Câmpus Campo Mourão  
Diretoria de Graduação e Educação Profissional  
Departamento Acadêmico de Química - DAQUI  
Curso de Licenciatura em Química



## TERMO DE APROVAÇÃO

# **ESTUDO DE ANCORAGEM MOLECULAR DE DERIVADOS DE ÁCIDO CINÂMICO FRENTE À ENZIMAS DO CICLO REPLICATIVO DO HIV-1**

por

**JOÃO PEDRO DE ALBUQUERQUE SOUZA**

Este trabalho foi apresentado em 08 de dezembro de 2015 como requisito parcial para a obtenção do título de Licenciado em Química. O Candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação a Banca Examinadora considerou o trabalho APROVADO.

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Rafaelle Bonzanini Romero  
(UTFPR)

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Daniela Aline Barancelli  
(UTFPR)

---

Prof. Msc. Adriano Lopes Romero  
(UTFPR)  
*Orientador*

*À todos que contribuíram para realização desse trabalho,  
em especial, à minha família.*

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por permitir que até aqui eu chegasse, por me dar forças em toda essa caminhada conturbada e por me acompanhar até essa grande vitória.

A minha família, por todo apoio que me foi dado, em especial aos meus pais Sergio e Maria do Carmo, por auxiliarem, pela dedicação e por permitirem que tudo isso acontecesse nesses quatro anos longe de casa e, também, a minha tia Ana que sempre me mostrou a importância do estudar e por todo o incentivo, desde o início.

As grandes amizades que nasceram em nossa turma, que cresceram e hoje não se limitam a academia, aos meus grandes amigos do laboratório G008, em especial a Helaine, Hellen, Julia, Juliano, Kamila, Karin, Leandro, Leticia, Manoel, Mirele, Mônica, Rafaelle, Thayle, e todos os outros que jamais serão esquecidos, por todo auxílio, apoio, motivação e por serem quem são.

A orientação desse trabalho realizada pelo professor Adriano Lopes Romero, pela dedicação à formação de todos os seus alunos, pelos conhecimentos a mim ensinados, por aceitar fazer parte de mais um trabalho, me orientando desde o início do curso com projetos de pesquisa, e por não querer que eu pare por aqui e por estar sempre pensando no futuro de seu alunos.

A todos os professores com quem tive o privilégio de tanto aprender ao longo do meu percurso acadêmico, em especial as professoras Estela, Natália e Rafaelle e os professores Adriano e Gustavo pelas ajudas que foram muito além das aulas, que tiveram fortes contribuições não só na minha formação profissional, mas também na minha formação pessoal. Aos professores que constituíram as bancas de defesa do trabalho de conclusão de curso (Prof. Msc. Adriano Lopes Romero, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Daniela Aline Barancelli e Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Rafaelle Bonzanini Romero), pelas tão significativas contribuições ao meu trabalho. Também ao professor Dr. Adley F. Rubira da UEM, pelas contribuições nas análises realizadas no trabalho.

À Universidade Tecnológica Federal do Paraná, pela oportunidade.

E a todos que contribuíram direta ou indiretamente para que esse sonho se realizasse. Certamente essas poucas palavras não são suficientes para agradecer aos que tanto me ajudaram, e tenho certeza que continuarão ao meu lado para as próximas lutas e para as próximas conquistas. Aqui deixo o meu muito obrigado e ressalto que a vitória foi de todos que lutaram.

A única forma de chegar ao impossível, é acreditar que é possível.

[...]

Alice: Chapeleiro, você me acha louca?

Chapeleiro: Louca, louquinha!

Mas vou te contar um segredo:

As melhores pessoas são.

(CARROLL, Lewis, 2002)

## RESUMO

SOUZA, João Pedro de Albuquerque. Estudo de Ancoragem Molecular de Derivados de Ácido Cinâmico Frente à Enzimas do Ciclo Replicativo do HIV-1. 2015. 90 f. TCC (Curso de Licenciatura em Química) – Departamento de Química, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão, 2015.

A infecção causada pelo Vírus da Imunodeficiência Humana consiste em um problema de saúde pública de nível mundial, destacando a necessidade de pesquisas de novos fármacos mais eficiente e com menos efeitos colaterais. Desse modo, buscando contribuir para os avanços no tratamento da infecção causada pelo HIV, o presente trabalho objetivou realizar estudos *in silico* para avaliar o potencial antirretroviral de ésteres e amidas derivados do ácido cinâmico, assim como uma proposta para a síntese de alguns dos cinamatos. Para isso, foram propostos 25 compostos que podem ser produzidos a partir de reações de esterificação com o ácido cinâmico, avaliada as suas propriedades ADMET e realizado um estudo de ancoragem molecular com enzimas transcriptase reversa e protease de HIV-1. Também foram sintetizados e caracterizados cinco dos compostos avaliados nos estudos *in silico*, os cinamatos de guaiacoila, de 3-acetofenonila, de vanilinila, de eugenila e de timila. Com a avaliação das propriedades ADMET foi possível observar que os compostos avaliados apresentam favoráveis propriedades para uma boa biodisponibilidade oral e efeitos toxicológicos significativamente menores que os presentes nos protagonistas da derivação. Os resultados também indicam que alguns dos compostos inibem algumas das isoformas do citocromo, sendo essa uma expressiva desvantagem encontrada nos compostos avaliados. No estudo de ancoragem molecular, foi observado que as enzimas transcriptase reversa apresentaram melhores energias de interação com os compostos avaliados. Apesar dos estudos realizados com as enzimas transcriptase reversa apresentarem menores valores de energia de interação, os compostos não interagiram em uma região favorável à inibição da enzima. Já o estudo realizado com as enzimas protease apresentaram energia de interação inferiores. Entretanto, os estudos com as proteases foram favorecidos pela região em que todos os ligantes apresentaram menores energias de interação, no interior do sítio alostéricos. Com interações favoráveis em energia e localização, o estudo de ancoragem molecular indicou um maior potencial de inibição da enzima protease, sendo a região de interação enzima-ligante o principal fator para essa conclusão. A sínteses dos derivados de guaiacoila, de 3-acetofenonila, de vanilinila, de eugenila e de timila ocorreram com êxito obtendo um rendimento médio de 60%. Os compostos sintetizados foram caracterizados por RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  apresentaram deslocamentos químicos coerentes aos encontrados na literatura, permitindo estabelecer a completa atribuição dos deslocamentos químicos dos átomos de hidrogênio e de carbono-13.

**Palavras-chave:** HIV-1. Antirretrovirais. Derivados de ácido cinâmico.

## ABSTRACT

SOUZA, João Pedro de Albuquerque. Molecular Docking Study of Cinnamic Acid Derivatives Against Enzymes of HIV-1 Replicative Cycle. 2015. 90 f. TCC (Curso de Licenciatura em Química) – Departamento de Química, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão, 2015.

The infection caused by HIV is a global public health problem, demonstrating the necessity to research for new and more effective drugs with fewer side effects. Thus, looking for to contribute to advances in the treatment of infections caused by HIV, the present work aimed to perform *in silico* studies to evaluate the potential antiretroviral esters and amides derivatives of cinnamic acid, as well as a proposal for the synthesis thereof. For this, 25 compounds synthesized from esterification reactions with cinnamic acid have been proposed, evaluated their ADMET properties and molecular docking study with reverse transcriptase and HIV-1 protease enzymes. Also, it was synthesized and characterized five of the compounds evaluated in *in silico* studies, guaiacol, 3-acetophenone, vanillin, eugenol, and the thymyl cinnamates. With the assessment of the ADMET properties, it was observed that the evaluated compounds have favorable properties to a good oral bioavailability and significantly lower toxicological effects than those present in the derivation of the protagonists. The results also indicate that a few compounds inhibit some cytochrome enzymes, which is a significant disadvantage found in the evaluated compounds. Although the studies performed with reverse transcriptase enzyme shown better interaction energy values, the compounds did not interact in a favorable region to inhibit the enzyme. However, studies with protease enzymes presented a lower interaction energy. Also, studies with the proteases were favored by the region where all ligands showed lower interaction energy, inside the allosteric site. With favorable interactions in energy and location, the molecular docking studies indicated a greater potential to inhibit the protease enzyme, it is the enzyme-ligand interaction region the main reason for this conclusion. Synthesis of guaiacol, 3-acetophenone, vanillin, eugenol, and thymyl cinnamates occurred successfully obtaining an average yield of 60%. The synthesized compounds were characterized by  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR, showed chemical shifts consistent with literature data, enabling to establish the complete assignment of the chemical shift of hydrogen and carbon-13.

**Keywords:** HIV-1. Antiretrovirals. Cinnamic acid derivatives.

## LISTAS FIGURAS

Figura 1 – Ciclo replicativo do HIV-1 e alvos terapêuticos do tratamento anti-HIV. ..	17
Figura 2 – Estrutura tridimensional da enzima HIV-1 transcriptase reversa PDB 1TL1 com destaque para o ligante cristalográfico e para o sítio ativo. ....	19
Figura 3 – Interações dos ligante cristalográficos com os aminoácidos do sítio alostérico das enzima HIV-1 Transcriptase reversa (a) PDB 1TL1 e (b) PDB 1TL3. ....	19
Figura 4 – Estrutura tridimensional da enzima HIV-1 protease PDB 1OHR com destaque para o ligante cristalográfico e para o sítio ativo. ....	20
Figura 5 – Interações do ligante cristalográfico com os aminoácidos do sítio alostérico da enzima HIV-1 protease PDB 1OHR. ....	21
Figura 6 – Mecanismo de clivagem de uma ligação peptídica HIV-1 protease. ....	22
Figura 7 – Representação estrutural do ácido cinâmico (1). ....	28
Figura 8 – Representação estrutural do ácido cinâmico (1) e dos cinamatos (2-17) avaliados nesse trabalho. ....	31
Figura 9 – Representação estrutural das cinamamidas (18-25) avaliadas nesse trabalho. ....	32
Figura 10 – Representação molecular dos fragmentos classificados como tóxicos pela ferramenta Osiris. ....	39
Figura 11 – (a) Representação das interações dos derivados avaliados com a enzima TR PDB 1TKX obtidas no estudo de ancoragem molecular realizado na ferramenta iGEMDOCK e (b) agrupamento hierárquico do perfil de interação dos ligantes. ....	47
Figura 12 – (a) Representação das interações dos derivados avaliados com a enzima TR PDB 1TL1 obtidas no estudo de ancoragem molecular realizado na ferramenta iGEMDOCK e (b) agrupamento hierárquico do perfil de interação dos ligantes. ....	48
Figura 13 – (a) Representação das interações dos derivados avaliados com a enzima TR PDB 1TL3 obtidas no estudo de ancoragem molecular realizado na ferramenta iGEMDOCK e (b) agrupamento hierárquico do perfil de interação dos ligantes. ....	49
Figura 14 – (a) Representação das interações dos derivados avaliados com a enzima PT PDB 1HXB obtidas no estudo de ancoragem molecular realizado na ferramenta iGEMDOCK e (b) agrupamento hierárquico do perfil de interação dos ligantes. ....	51
Figura 15 – (a) Representação das interações dos derivados avaliados com a enzima TR PDB 1OHR obtidas no estudo de ancoragem molecular realizado na ferramenta iGEMDOCK e (b) agrupamento hierárquico do perfil de interação dos ligantes. ....	52

Figura 16 – (a) Representação das interações dos derivados avaliados com a enzima TR PDB 2BPX obtidas no estudo de ancoragem molecular realizado na ferramenta iGEMDOCK e (b) agrupamento hierárquico do perfil de interação dos ligantes. ....	53
Figura 17 – Representação genérica para a reação síntese dos ésteres a partir do ácido cinâmico (1). ....	54
Figura 18 – Deslocamentos Químicos de $^1\text{H}$ do ácido cinâmico e dos cinamatos de sintetizados. ....	57
Figura 19 – Deslocamentos Químicos de $^{13}\text{C}$ do ácido cinâmico, dos cinamatos e dos ésteres utilizados como referência na atribuição dos deslocamentos. ....	58
Figura 20 – Representação das interações dos derivados avaliados com a enzima TR PDB 1TKX obtidas no estudo de ancoragem molecular realizado na ferramenta iGEMDOCK. ....	72
Figura 21 – Representação das interações dos derivados avaliados com a enzima TR PDB 1TKX obtidas no estudo de ancoragem molecular realizado na ferramenta iGEMDOCK em agrupamento hierárquico do perfil de interação dos ligantes. ....	73
Figura 22 – Representação das interações dos derivados avaliados com a enzima TR PDB 1TL1 obtidas no estudo de ancoragem molecular realizado na ferramenta iGEMDOCK. ....	74
Figura 23 – Representação das interações dos derivados avaliados com a enzima TR PDB 1TL1 obtidas no estudo de ancoragem molecular realizado na ferramenta iGEMDOCK em agrupamento hierárquico do perfil de interação dos ligantes. ....	75
Figura 24 – Representação das interações dos derivados avaliados com a enzima TR PDB 1TL3 obtidas no estudo de ancoragem molecular realizado na ferramenta iGEMDOCK. ....	76
Figura 25 – Representação das interações dos derivados avaliados com a enzima TR PDB 1TL3 obtidas no estudo de ancoragem molecular realizado na ferramenta iGEMDOCK em agrupamento hierárquico do perfil de interação dos ligantes. ....	77
Figura 26 – Espectro e deslocamentos químicos de $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 300,06 MHz) do ácido cinâmico (1). ....	79
Figura 27 – Espectros e deslocamentos químicos de $^{13}\text{C}$ e DEPT 135 ( $\text{CDCl}_3$ , 75,45 MHz) do ácido cinâmico (1). ....	80
Figura 28 – Espectro e deslocamentos químicos de $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 300,06 MHz) do cinamatos de Guaiacoila (9). ....	81
Figura 29 – Espectros e deslocamentos químicos de $^{13}\text{C}$ e DEPT 135 ( $\text{CDCl}_3$ , 75,45 MHz) do Cinamato de guaiacoila (9). ....	82
Figura 30 – Espectro e deslocamentos químicos de $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 300,06 MHz) do cinamatos de 3-acetofenonila (12). ....	83
Figura 31 – Espectros e deslocamentos químicos de $^{13}\text{C}$ e DEPT 135 ( $\text{CDCl}_3$ , 75,45 MHz) do Cinamato de 3-acetofenonila (12). ....	84

Figura 32 – Espectro e deslocamentos químicos de $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 300,06 MHz) do cinamatos de vanilinila (14). .....	85
Figura 33 – Espectros e deslocamentos químicos de $^{13}\text{C}$ e DEPT 135 ( $\text{CDCl}_3$ , 75,45 MHz) do Cinamato de vanilinila (14). .....	86
Figura 34 – Espectro e deslocamentos químicos de $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 300,06 MHz) do cinamatos de eugenila (15). .....	87
Figura 35 – Espectros e deslocamentos químicos de $^{13}\text{C}$ e DEPT 135 ( $\text{CDCl}_3$ , 75,45 MHz) do Cinamato de eugenila (15). .....	88
Figura 36 – Espectro e deslocamentos químicos de $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 300,06 MHz) do cinamatos de timila (16). .....	89
Figura 37 – Espectros e deslocamentos químicos de $^{13}\text{C}$ e DEPT 135 ( $\text{CDCl}_3$ , 75,45 MHz) do Cinamato de timila (16). .....	90

## LISTA DE TABELA

Tabela 1 – Características das enzimas HIV-1 TP e HIV-1 PT utilizadas neste trabalho. ....	34
Tabela 2 – Propriedades moleculares calculadas no software Molinspiration para o ácido cinâmico, cinamatos e cinamamidas. ....	37
Tabela 3 – Toxicidade, similaridade e potencial farmacológico, calculadas no software Osiris, para o ácido cinâmico, cinamatos e cinamamidas.....	38
Tabela 4 – Toxicidade calculadas no software Osiris para os precursores sintéticos. ....	39
Tabela 5 – Resultados da avaliação da absorção, toxicidade e metabolização do ácido cinâmico (1), cinamatos (2-17) e cinamamidas (18-25) realizada na ferramenta admetSAR.....	42
Tabela 6 – Energias, em kcal.mol <sup>-1</sup> , obtidas do estudo de ancoragem molecular, no software iGEMDOCK para as enzimas HIV-1 transcriptase reversa. ....	43
Tabela 7 – Energias, em kcal.mol <sup>-1</sup> , obtidas do estudo de ancoragem molecular, no software iGEMDOCK para as enzimas HIV-1 protease. ....	44
Tabela 8 – Médias das energias obtidas, em kcal.mol <sup>-1</sup> , do estudo de ancoragem molecular.....	45

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>ADMET</b>	Administração, Distribuição, Metabolização, Excreção e Toxicidade
<b>AIDS</b>	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
<b>CCD</b>	Cromatografia em Camada Delgada
<b>cDNA</b>	Ácido Desoxiribonucleico complementar
<b>CYP450</b>	Citocromo P 450
<b>DCC</b>	<i>N,N</i> -dicicloexilcarbodiimida
<b>DL<sub>50</sub></b>	Dose Letal Mediana
<b>DMAP</b>	<i>N,N</i> -4-dimetilaminopiridina
<b>DNA</b>	Ácido Desoxiribonucleico
<b>GP</b>	Glicoproteínas
<b>HAART</b>	Terapia Antirretroviral Altamente Ativa
<b>HIV</b>	Vírus da Imunodeficiência Humana
<b>HIV-1</b>	Vírus da Imunodeficiência Humana Tipo 1
<b>HIV-2</b>	Vírus da Imunodeficiência Humana Tipo 2
<b>IN</b>	Integrase
<b>LH</b>	Ligação de Hidrogênio
<b>miLogP</b>	Coefficiente de Partição Octanol/Água
<b>MM</b>	Massa Molar
<b>nALH</b>	Número de Aceptores de Ligação de Hidrogênio
<b>nDLH</b>	Número de Doadores de Ligação de Hidrogênio
<b>NNRTI</b>	Inibidores de Transcriptase Reversa Não Nucleosídeo
<b>nrotb</b>	Número de Bandas Rotáveis
<b>NRTI</b>	Inibidores de Transcriptase Reversa Nucleosídeo
<b>PT</b>	Protease
<b>RMN</b>	Ressonância Magnética Nuclear
<b>RNA</b>	Ácido Ribonucleico
<b>TPSA</b>	Área Superficial Topológica Polar
<b>TR</b>	Transcriptase Reversa
<b>VDW</b>	Interações de van der Waals

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	14
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	15
2.1 VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA – HIV .....	15
2.1.1 Ciclo de replicação do HIV-1 .....	16
2.1.1.1 HIV-1 transcriptase reversa .....	18
2.1.1.2 HIV-1 protease .....	20
2.2 MODELOS DE INIBIÇÃO ENZIMÁTICA .....	22
2.3 TRATAMENTO ANTIRRETROVIRAL (ANTI-HIV) .....	23
2.4 PESQUISA E DESENVOLVIMENTO DE FÁRMACOS .....	25
2.4.1 Ferramentas de Químioinformática: Estudos <i>In Silico</i> .....	25
2.4.1.1 Calculo de propriedades ADMET .....	26
2.4.1.2 Ancoragem molecular .....	26
2.5 FENILPROPANÓIDES .....	27
2.5.1 Ácido Cinâmico .....	28
<b>3 OBJETIVO</b> .....	30
3.1 OBJETIVO GERAL .....	30
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	30
<b>4 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS</b> .....	31
4.1 ESTUDOS <i>IN SILICO</i> .....	32
4.1.1 Estudo das Propriedades ADMET .....	32
4.1.2 Estudo de Ancoragem Molecular .....	33
4.2 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE ÉSTERES DE ÁCIDO CINÂMICO .....	34
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÕES</b> .....	36
5.1 ESTUDOS <i>IN SILICO</i> .....	36
5.2 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE ÉSTERES DE ÁCIDO CINÂMICO .....	54
<b>6 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	60
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	62
<b>ANEXO I – Imagens complementares do estudo de ancoragem molecular com as enzimas HIV-1 Transcriptase Reversa</b> .....	71
<b>ANEXO II – Espectros de RMN de <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C e DEPT dos compostos avaliados</b> .....	78

## 1 INTRODUÇÃO

Na contemporaneidade, a infecção causada pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV, do inglês *Human Immunodeficiency Virus*) consiste em um problema de saúde pública de nível mundial. Isso porque o vírus ataca o sistema imunológico, deixando o organismo do hospedeiro sem defesas contra outras doenças. Um estágio avançado da infecção é a Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS, do inglês *Acquired Immunodeficiency Syndrome*), em que o sistema imunológico está completamente debilitado, podendo ser diagnosticado com o surgimento de doenças oportunistas e alguns tipos de câncer.

Sendo um retrovírus, o HIV possui como material genético o ácido ribonucleico (RNA), desse modo possui um ciclo de replicação mais complexo. O processo inicia-se pela fusão, seguido da liberação do material proteico que constitui o vírus no citosol, a transcrição do material genético, a integração ao material genético transcrito e a maturação do vírus. A terapia antirretroviral utilizada no tratamento da infecção atua em etapas específicas do ciclo de replicação do vírus, objetivando uma suspensão duradoura da carga viral e a restauração ou preservação das funções imunológicas. Entretanto, apesar de todos os avanços no tratamento da infecção, a eficácia é limitada devido ao surgimento de HIV-1 resistentes, a alta toxicidade dos fármacos utilizados no tratamento e a baixa resposta terapêutica de alguns indivíduos, agregando várias dificuldades ao tratamento. Além disso, os medicamentos em uso não são bem tolerados e apresentam uma série de efeitos adversos, que reduz a adesão e a permanência do infectado no tratamento. Todas essas dificuldades associadas ao tratamento instiga os grupos de pesquisa a propor fármacos mais eficientes e com menos efeitos colaterais para o tratamento da infecção causada pelo vírus.

Desse modo, buscando contribuir para os avanços no tratamento da infecção causada pelo HIV, o presente trabalho objetiva realizar estudos *in silico* para avaliar o potencial antirretroviral de ésteres e amidas derivados do ácido cinâmico, assim como uma proposta para a síntese de alguns dos ésteres cinamatos.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A infecção causada pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV), desde seu início no Brasil em 1980 até junho de 2014, contou com 757.042 casos registrados no país. Desses casos, até dezembro de 2013, foram identificados 278.306 óbitos tendo como causa básica a doença (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014). Esse vírus ataca o sistema imunológico, deixando o organismo sem defesas contra outras doenças como hepatites virais, tuberculose e pneumonias.

Um estágio final da infecção causada pelo HIV é a Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS), desse modo, não são todos portadores do vírus que chegam a essa fase. Nesse estágio o sistema imunológico está completamente debilitado, pois, ela provoca a destruição e declínio dos linfócitos T CD4<sup>+</sup>, o que resulta na diminuição da capacidade do corpo em combater infecções (MOJAVER; KHEIRI, 2015). Desse modo, esse estágio pode ser identificado pela presença de uma ou mais infecções oportunistas, como certos tipos de câncer e baixo número de linfócitos.

### 2.1 VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA – HIV

O HIV é um vírus da família *Retroviridae*, do gênero *Lentivirus*. Dois tipos do vírus causador da infecção foram isolados: o HIV-1, no início da década de 80, de pacientes com linfadenopatia persistente e o HIV-2 de pacientes com AIDS na África Ocidental em 1986. A pandemia de AIDS é causada pelo HIV-1, já o HIV-2 apresenta progressão lenta para o estágio mais avançado da doença, casos esporádicos foram relatados na África, Europa, Ásia e Estados Unidos (SILVEIRA, 2011, p.15). Acredita-se que sua origem vem de mutações de um vírus que foi endêmico na vida selvagem de regiões da África central (TORTORA, 2012, p. 540).

Pela sua incapacidade de autorreprodução, como os demais vírus, o HIV precisa infectar uma célula que servirá de hospedeira para a sua replicação. Os retrovírus, pertencentes a família *Retroviridae*, têm o RNA como material genético e possuem um processo de replicação mais complexo (CUNICO et al., 2008). O HIV

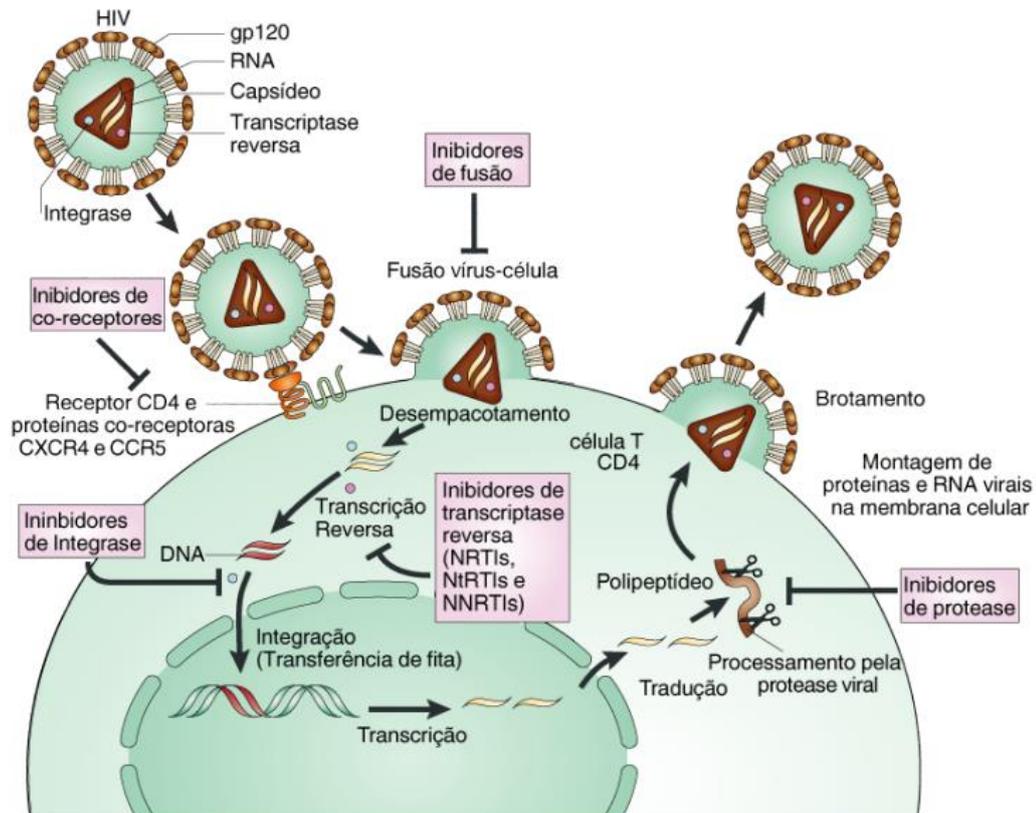
possui um formato esférico, sendo envolvido por um envelope formado por uma bicamada lipídica oriunda da membrana celular do hospedeiro multipontuado pelas Glicoproteínas (GP) virais GP 120 e GP 41, responsáveis pela fusão do vírus. No interior do capsídeo estão contidas duas cópias de RNA e as enzimas virais: transcriptase reversa (TR), integrase (IN) e protease (PT) (CARVALHO, 2011, p.10).

### 2.1.1 Ciclo de Replicação do HIV-1

Basicamente, a replicação do HIV passa por algumas etapas: a fusão, a transcrição reversa do RNA genômico para a formação da dupla hélice de ácido desoxirribonucleico complementar (cDNA), a integração do cDNA viral com o da célula do hospedeiro para a produção de RNA mensageiro que será traduzido em proteínas virais. A proteólise cliva a poliproteína viral precursora em proteínas individuais maduras e encerra pelo agrupamento dos compostos necessários para a formação, seguido do brotamento de um novo vírion que será liberado para formar uma nova célula conforme mostra a Figura 1 (CUNICO et al., 2008).

Glicoproteínas 120 do HIV possuem alta afinidade com os receptores CD4. Essa molécula, CD4, é encontrada nas células imunológicas, principalmente nos linfócitos T-auxiliares que são responsáveis pelo funcionamento do sistema imunológico, e nos macrófagos que combatem as bactérias e outros germes. Assim que a GP 120 é ativada, o vírus ativa proteínas na membrana plasmática dos linfócitos, as correceptoras CXCR4 e CCR5. As proteínas GP 41, que une a GP 120 com a membrana viral, tem uma mudança conformacional e se liga a membrana celular promovendo a fusão entre as duas camadas lipídicas (IAMARINO, 2012, p.19).

Fundido no citoplasma celular do hospedeiro, se inicia a produção do cDNA realizada pela polimerase TR. Nessa etapa, não se tem ao certo a dinâmica espaço-temporal de desempacotamento (IAMARINO, 2012, p.19), algumas literaturas afirmam que a transcrição reversa ocorre no citoplasma do hospedeiro (SUZUKI; CRAIGE, 2007) outras indicam um desempacotamento gradual em paralelo a produção do cDNA e o transporte ao núcleo (WARRILOW et al., 2009) e outra ainda que o desempacotamento ocorre apenas na membrana nuclear, após a completa transcrição do RNA (KLARMANN et al., 1993).



**Figura 1 – Ciclo replicativo do HIV-1 e alvos terapêuticos do tratamento anti-HIV.**  
 Fonte: Iamarino (2012, p. 37).

A inserção do cDNA ao DNA do hospedeiro é feita pela enzima IN, essencial para replicação viral. Ela catalisa a clivagem endonucleotídica dos 3'-terminal do cDNA e a transferência da fita de DNA da célula hospedeira. “A transferência da fita ocorre por meio de um transesterificação, em que o átomo de oxigênio 3'-terminal do DNA viral clivado ataca a ligação fosfodiéster do DNA do hospedeiro através de dois íons de  $Mg^{2+}$ ” (CARVALHO, 2011, p. 16). Ligado ao DNA do hospedeiro, o cDNA viral será convertido em RNA mensageiro, o qual se expressará na tradução de poliproteínas virais.

Responsável pelo processamento das poliproteínas virais gag e gag-pol, a ação das proteases resultam na produção das proteínas estruturais e funcionais para a formação de um novo vírion. Com os constituintes formados, as proteínas se organizam para montar o vírus, que brota da membrana celular do hospedeiro.

### 2.1.1.1 HIV-1 transcriptase reversa

Polimerase que atua na catalise da adição de nucleotídios, a enzima HIV-1 TR transcreve a fita simples de RNA viral em uma fita dupla de cDNA (HIMMEL, 2014). A enzima HIV-1 RT é um heterodímero formada por uma cadeia de 560 resíduos de aminoácidos chamada de p66 e uma outra cadeia formada por 440 resíduos de aminoácidos chamada de p51. A cadeia p66 é dividida em cinco unidades usualmente denominadas dedos, palma, polegar, conexão e Rnase H. A subunidade p51 apresenta os quatro primeiros domínios. O sítio catalítico de polimeriza o é formado pela tríade de resíduos<sup>1</sup> de aspartatos (Asp-110, Asp-185 e Asp-186) localizada na palma da cadeia p66. Essa tríade também   encontrada na cadeia p51, porém, com um arranjo radicalmente diferente que inativa esse sítio catalítico. O domínio Rnase H também apresenta um sítio catalítico que auxilia na degrada o do RNA, ausente na cadeia p51. A Figura 2 traz a representa o da estrutura molecular da enzima TR com destaque as regiões do sítio ativo de polimeriza o e o sítio alostérico, onde se encontra o ligante cristalográfico.

Os inibidores não nucleosídeos de TR tem um mecanismo de a o conhecido, observado na estrutura da proteína na presença e na ausência do ligante. Ao ocupar o sítio alostérico, os inibidores ocasionam um reposicionamento das folhas beta da cadeia p66, onde se encontra os resíduos de aspartatos que compõem a tríade catalítica, resultando em uma conforma o inativa do sítio catalítico de polimeriza o, similar ao presente na cadeia p51 (ESNOUF, 1995). Determinando a estrutura de enzimas HIV-1 RT, Kohlstaedt e colaboradores (1992<sup>2</sup> apud SHEN et al., 2003) e Ding colaboradores (1995<sup>3</sup> apud SHEN et al., 2003) descreveram que o sítio alostérico está localizado a uma distância próxima de 10   do sítio ativo da polimerase e é formado pelos resíduo de aminoácidos Leu-100, Lys-101, Lys-103, Val-106, Thr-107, Val-108, Val-179, Tyr-181, Tyr-188, Val-189, Gly-190, Phe-227, Trp-229, Leu-234 e Tyr-318. A intera o com alguns desses aminoácidos pode ser observada

---

<sup>1</sup> Utilizou-se, nesse trabalho, a simbologia para aminoácidos adotada na língua inglesa.

<sup>2</sup> Kohlstaedt, Lori A. et al. Crystal structure at 3.5   resolution of HIV-1 reverse Transcriptase complexed with an inhibitor. **Science**, v. 256, n. 5065, p. 1783-1790, 1992.

<sup>3</sup> DING, Jianping et al. Structure of HIV-1 RT/TIBO R 86183 complex reveals similarity in the binding of diverse nonnucleoside inhibitors. **Nature Structural Biology**, v. 2, p. 407-415, 1995.

com os ligantes cristalográficos das enzimas HIV-1 TR como ilustrados na Figura 3,

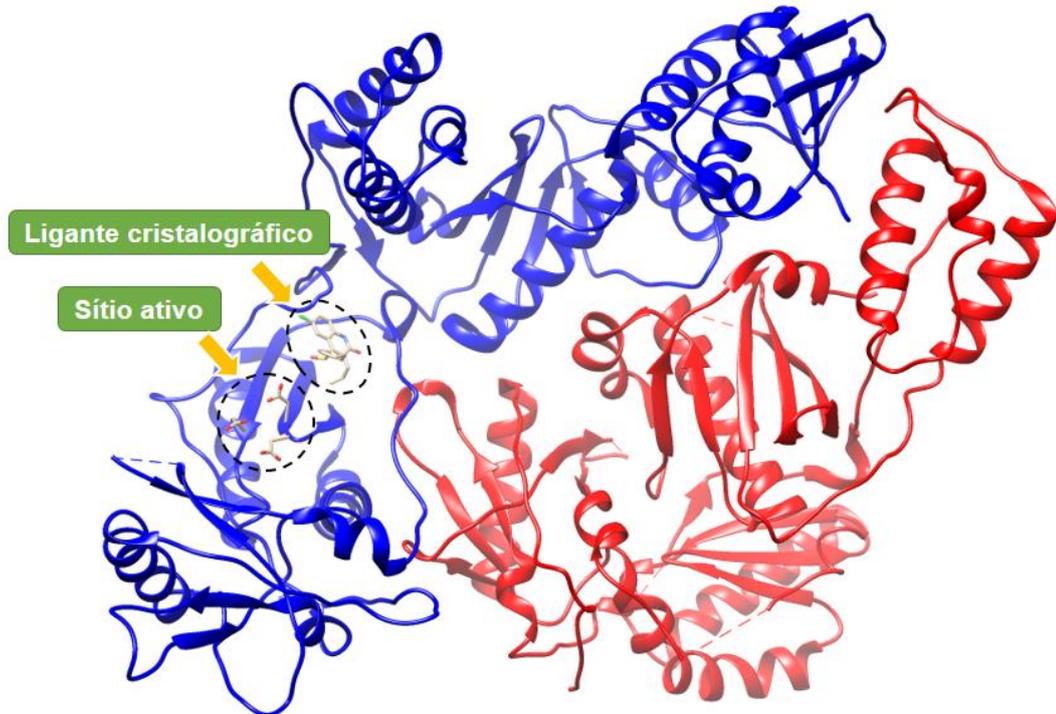


Figura 2 – Estrutura tridimensional da enzima HIV-1 transcriptase reversa PDB 1TL1 com destaque para o ligante cristalográfico e para o sítio ativo.

Fonte: Autoria própria.

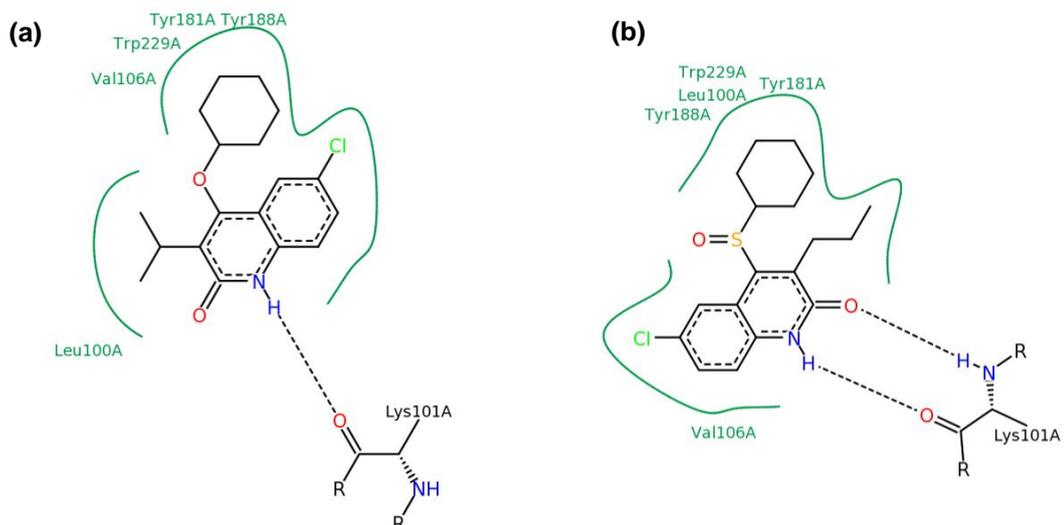


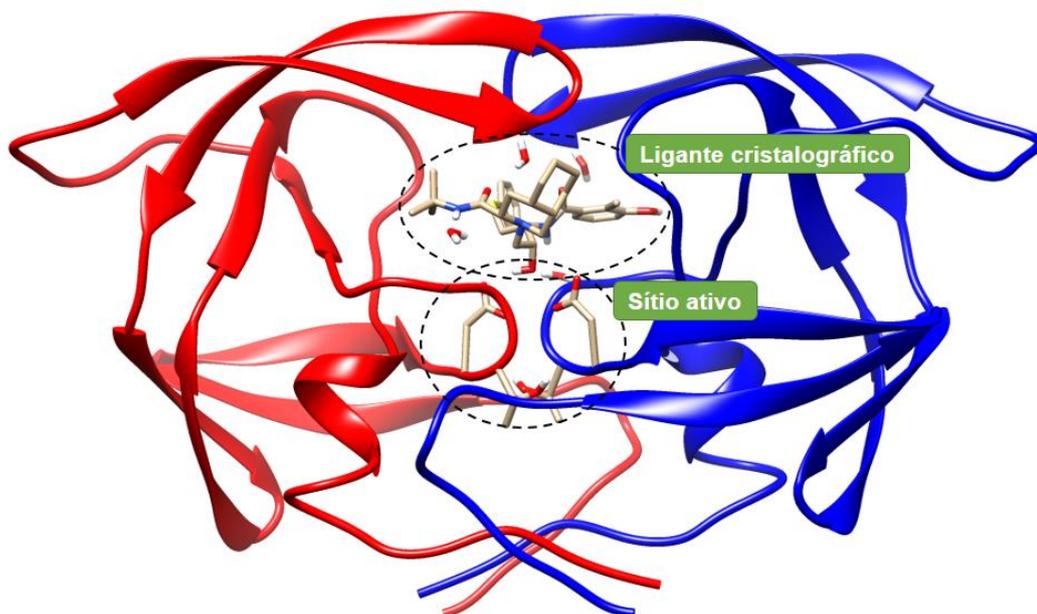
Figura 3 – Interações dos ligante cristalográficos com os aminoácidos do sítio alostérico das enzima HIV-1 Transcriptase reversa (a) PDB 1TL1 e (b) PDB 1TL3.

Fonte: *Protein Data Bank*<sup>4</sup>.

<sup>4</sup> O *Protein Data Bank* (PDB), em português Banco de Dados de Proteínas, é um banco que possui dados cristalográficos de proteínas e ácidos nucleicos. Esse acervo *online* apresenta um domínio público, os arquivos constantes podem ser usados livremente pelo endereço <http://www.rcsb.org/pdb>.

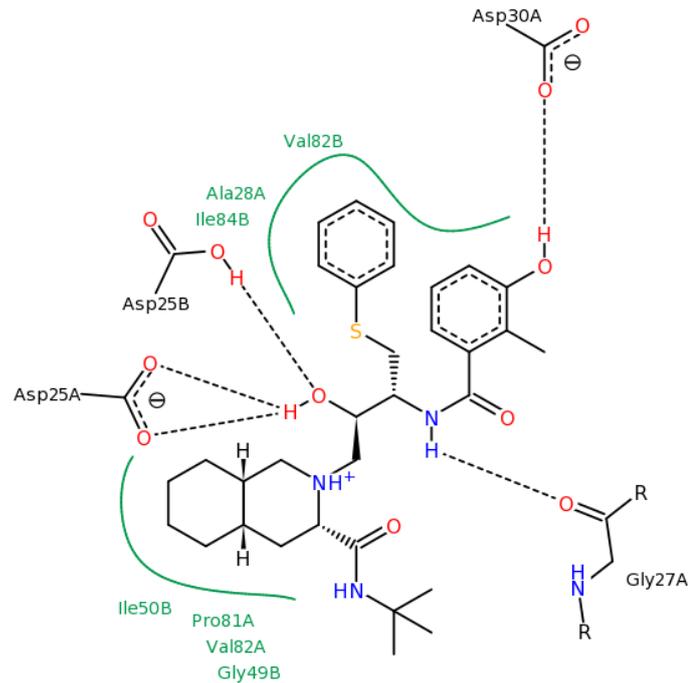
### 2.1.1.2 HIV-1 protease

Isolada pela primeira vez em 1988, a HIV-1 protease é um homodímero constituído de duas cadeias de 99 aminoácidos (SEELMEINER, 1988). No sítio ativo encontram-se dois aminoácidos aspartato 25 (Asp-25), um de cada cadeia destacados na Figura 4, e os aminoácidos treonina 26 (Thr-26) e glicina 27 (Gly-27), completando a tríade catalítica. Essa enzima pertence à família das aspartilproteases e a catálise é auxiliada por moléculas de água presentes no sítio ativo (IAMARINO, 2012, p. 29). As interações com os resíduos de aminoácidos Asp-25, Gly-27, Ala-28, Asp-29 e 30, Val-32, Ile-47, Gly 48 e 49, Ile-50, Pro-81, Val-82, Ile-84 são facilmente encontradas nos inibidores da enzima, caracterizando o sítio alostérico localizado na cavidade superior do sítio ativo ilustrado na Figura 4.



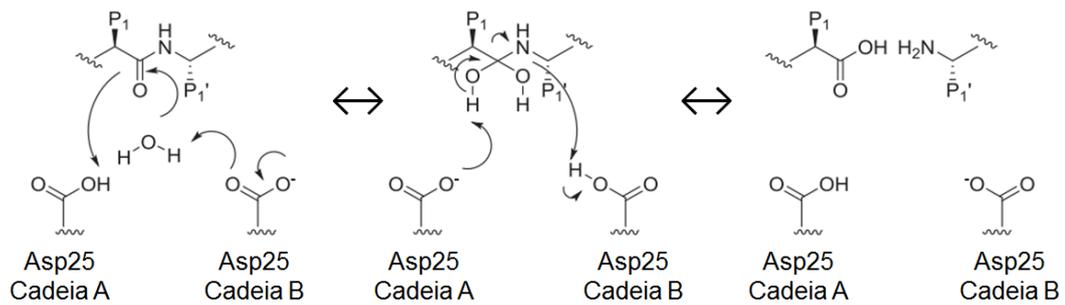
**Figura 4 – Estrutura tridimensional da enzima HIV-1 protease PDB 1OHR com destaque para o ligante cristalográfico e para o sítio ativo.**  
Fonte: Autoria própria.

As interações do ligante cristalográfico inibidor mesilato de nelfinavir com alguns desses resíduos de aminoácidos estão ilustrados na Figura 5.



**Figura 5 – Interações do ligante cristalográfico com os aminoácidos do sítio alostérico da enzima HIV-1 protease PDB 1OHR.**  
**Fonte: Protein Data Bank.**

A quebra da ligação peptídica catalisada pela HIV-1 protease é correspondente às demais aspartilproteases. O processo inicia com um ataque nucleofílico de uma molécula de água, que interage com os aspartatos, à carbonila da ligação peptídica a ser clivada. Um próton, anteriormente ligado ao Asp-25 da cadeia A amplia a eletrofilicidade da carbonila por uma interação do tipo ligação de hidrogênio. Ele também estabiliza a adição por um rearranjo de hidrogênio do ácido carboxílico da cadeia A para o oxigênio que formava a carbonila. Ocorre a protonação do aspartato da cadeia B pelo próton oriundo da molécula de água. Após a formação do intermediário tetraédrico quebra-se a ligação peptídica. O carboxilato da cadeia A remove o próton do intermediário e o átomo de nitrogênio é protonado pelo hidrogênio do aspartato da cadeia B, induzindo a reformulação da carbonila e a quebra da ligação peptídica (Figura 6). Compostos que mimetizam o intermediário tetraédrico impedem que a enzima hidrólise seu substrato (MOTWANI et al., 2015).



**Figura 6 – Mecanismo de clivagem de uma ligação peptídica HIV-1 protease.**  
**Fonte: Adaptado de MOTWANI et al. (2015).**

## 2.2 MODELOS DE INIBIÇÃO ENZIMÁTICA

Conhecendo o ciclo de replicação do HIV, fica clara a essencialidade que cada proteína possui. Desse modo, a interrupção de alguma dessas etapas resultará na não execução do ciclo de replicação, impedindo a fusão, a formação de um novo vírus ou resultando na formação de vírion imaturo não infeccioso. Não só no tratamento do HIV, mas em várias outras doenças, proteínas essenciais para o patógeno tem constituído um importante alvo terapêutico (GUIDO et al. 2010).

O modelo proposto por Fischer conhecido como chave-fechadura serve para explicar a seletividade das enzimas aos seus substratos, em que a chave corresponde a uma micromolécula, a fenda da fechadura ao sítio receptor, a fechadura a uma macromolécula e o “abrir” da fechadura a resposta biológica. Nesse modelo, se discute que a chave original facilmente abre a porta, ou seja, o ligante endógeno facilmente gera a resposta biológica, porém, uma chave modificada, moldada para aquela fenda também pode abrir a fechadura, bem como, uma molécula preparada para mimetizar o substrato natural pode ter acesso ao sítio receptor e resultar em uma resposta biológica. Já uma chave falsa não pode abrir a porta, se ela tiver acesso a fenda, pode entrar na fechadura, sem abri-la, e impedir o acesso da chave original, aplicando ao sistema biológico, um ligante que tem acesso ao sítio receptor, porém é diferente dos agonistas endógenos ou modificados, não resultará em uma resposta biológica, e se ocupar favoravelmente a cavidade, vai bloquear a entrada dos ligantes naturais (BARREIRO, 2015, p. 3).

Na contemporaneidade, tem-se o conhecimento da dinâmica da interação da macromolécula com a micromolécula, destacando a principal falha do modelo de

Fischer. Nenhuma das unidades apresenta uma estrutura rígida, como uma chave e uma fechadura. No sistema biológico, há uma relação dinâmica em que o ligante e a proteína varam a sua conformação até atingir menor energia do complexo proteína-ligante. Essa concepção dinâmica do processo surge com o modelo do encaixe induzido proposto por Koshland (BARREIRO, 2015, p. 17).

Um inibidor enzimático consiste em uma molécula capaz de reduzir ou inibir completamente a atividade catalítica da enzima, quer seja reversivelmente ou permanentemente (irreversivelmente). O complexo enzima-ligante vai determinar o tipo de inibição em função das interações e das possíveis reações que podem vir a ocorrer no sítio ativo.

Os inibidores reversíveis levam à formação de um complexo em um sistema em equilíbrio dinâmico, no qual a enzima apresenta um grau definido de inibição, que depende das concentrações da enzima, do inibidor e do substrato no meio reacionário, permanecendo constante a partir de um tempo determinado. Os inibidores reversíveis podem ser divididos em três tipos básicos, o competitivo, o não-competitivo e o misto e apresentam um equilíbrio dinâmico de interação com a enzima. Um inibidor competitivo vai disputar o sítio ativo da macromolécula com o substrato natural. Os inibidores não-competitivos interagem no sítio alostérico da enzima somente quando o sítio ativo está ocupado pelo ligante endógeno, impedindo a catalise no complexo enzima-substrato, já formado. Já os inibidores mistos, também se ligam ao sítio alostérico da enzima, porém, antes da formação do complexo enzima-substrato, permitindo a catalise somente após a saída do inibidor do sítio (LEHNINGER, 2003, p. 205).

Inibidores irreversíveis são aqueles que se combinam com um grupo funcional de um resíduo de aminoácido da enzima ou destroem ou ainda formam uma associação covalente bastante estável, sendo comum a formação de ligação covalente entre o inibidor e a enzima, ou seja, ligam-se irreversivelmente com a enzima (LEHNINGER, 2003, p. 204).

### 2.3 TRATAMENTO ANTIRRETROVIRAL (ANTI-HIV)

O objetivo idealizado da terapia antirretroviral é impedir a infecção pelo vírus

do HIV ou impedir a sua replicação, porém, devido a fatores como a resistência do vírus, o principal objetivo é a suspensão duradoura da carga viral e a restauração ou preservação das funções imunológicas (PROVENCHER, 2004). Para isso, os principais alvos terapêuticos são inibidores de fusão, e dos correceptores, de transcrição reversa, de integração e de proteases.

Inibidores de fusão impedem que o vírus infecte uma célula. Eles se baseiam em compostos que inibem a proteína gp41 ou os correceptores, impedindo que a enzima gp41 interaja com os correceptores, não permitindo a fusão viral (CUNICO et al., 2008).

Outro alvo de grande importância é a transcrição reversa, pois a replicação viral depende do metabolismo do hospedeiro que é comandado pelo seu DNA, juntamente com a integração do cDNA viral com o DNA da célula. Os inibidores de TR são divididos em duas classes: inibidores de transcriptase reversa não nucleosídeos (NNRTIs) e inibidores de transcriptase reversa nucleosídeos (NRTIs). Os NRTIs precisam ser metabolizados por enzimas que os trifosforilam, gerando os metabólitos ativos. Já os NNRTIs se ligam no sítio alostérico da enzima induzindo uma distorção e a perda da atividade. Os inibidores de integrase se ligam na interface integrase-DNA impedindo a incorporação do DNA viral com o DNA da célula (PROVENCHER, 2004).

A maturação do vírus é feita pela enzima HIV-1 protease. Os inibidores se ligam ao sítio ativo da HIV-1 protease e impedem o processamento das proteínas precursoras de poliproteínas gag e gag-pol, impedindo a proteólise, formando um novo vírus imaturo não infeccioso (CRUZ, 2014, p. 31).

A terapia tripla, também conhecida como Terapia Antirretroviral Altamente Ativa (HAART, do inglês *Highly active antiretroviral therapy*) é um padrão para o tratamento. Ela consiste em uma combinação de fármacos antirretrovirais: um inibidor de PT ou um NNRTI e dois NRTIs ou três NRTIs. Essa terapia que associa vários fármacos com mecanismos de ação diferentes tem como alvo as proteínas virais e se mostrou eficaz na redução da carga viral e no retardamento do progresso da doença. Todavia, essa terapêutica não previne ou cura a infecção (COCCARO et al., 2004; FISHER et al., 2006)

Pesar de todos os avanços obtidos no tratamento da infecção, Cunico et al. (2008) concluem em seu trabalho de revisão que “apesar desses avanços, a eficácia do tratamento da AIDS é limitada pelo surgimento de HIV-1 resistentes aos medica-

mentos disponíveis, a toxicidade dos mesmos e uma baixa resposta terapêutica de alguns indivíduos”. Outro problema apresentado pela terapia antirretroviral é que “os medicamentos atualmente em uso nem sempre são bem tolerados e exibem uma série de efeitos adversos, reduzindo assim, a adesão e a continuidade do regime terapêutico complexo” (FERREIRA et al., 2010). A busca por compostos que apresentem atividade frente ao vírus, mais eficazes e com menos efeitos colaterais, baseados nos alvos conhecidos do HIV e por novos alvos terapêuticos continua desafiadora.

## 2.4 PESQUISA E DESENVOLVIMENTO DE FÁRMACOS

Todo o conhecimento adquirido sobre o ciclo de replicação do HIV, a estrutura, os mecanismos de catálise cada enzima envolvidos e a importância que cada uma apresenta à replicação do vírus, instiga os pesquisadores a otimizar a produção de compostos biologicamente ativos, resultando em fármacos mais potentes e com menos efeitos colaterais para o tratamento da infecção causada pelo vírus.

O processo de pesquisa e desenvolvimento de fármacos é complexo, longo e de alto custo, podendo levar até 15 anos, com custos da ordem de U\$\$ 500-880 milhões, em alguns casos mais de U\$\$ 1 bilhão (LIMA, 2007; MOTA, 2007, p. 3). Técnicas *in silico* tem se mostrado eficazes no manejo de dados e mapeamento da estrutura 3D de alvos moleculares e ligantes, guiando a identificação e otimização de novos candidatos a fármacos e reduzindo o tempo e os custos envolvidos no processo (RODRIGUES et al., 2012).

### 2.4.1 Ferramentas de Químioinformática: Estudos *in silico*

Ferramentas computacionais têm ganhado importante espaço no cenário da química, principalmente em pesquisa e desenvolvimento de fármacos. Utilizada pela primeira vez em 1989, a expressão *in silico* até hoje traduz dados gerados e analisados utilizando modelagem computacional ou de tecnologias da informação

(IUPAC, 2013). A bioinformática e a quimioinformática estão integradas ao planejamento de novos fármacos e seu emprego inclui a identificação, seleção e otimização de moléculas candidatas a novas entidades químicas com elevado potencial terapêutico (MOTA, 2007, p. 2).

#### 2.4.1.1 Cálculo de propriedades ADMET

Absorção, Distribuição, Metabolização, Excreção e Toxicidade (ADMET) são parâmetros de grande importância no planejamento de fármacos. Isso porque, a administração do medicamento, a maioria das vezes pela via oral, introduz o composto para ser absorvido, chegar ao sangue, e ser distribuído pelo corpo. Esse também pode sofrer modificação catalisada enzimaticamente com o objetivo de reduzir a toxicidade, metabolização, e facilitar a sua excreção, realizada principalmente através da urina. Avaliar essas propriedades é importante porque não se obterá uma resposta terapêutica se o composto não alcançar o seu órgão-alvo numa concentração suficiente para exercer um efeito terapêutico (MOTA, 2007, p. 9). A toxicidade também possui relevante destaque nesse processo, pois se o possível fármaco apresenta um efeito tóxico, o mesmo curaria uma doença desenvolvendo outras. Técnicas computacionais como *Molinspiration*, *ALOGPS 2.1*, *ToxPredict* e *OSIRIS Property Explorer* podem ser utilizadas para avaliar o potencial de novos derivados sintéticos candidatos à fármacos.

#### 2.4.1.2 Ancoragem molecular

As interações entre uma proteína (macromolécula) e seu substrato (micromolécula) dependem da complementariedade estérica e eletrônica. Informações estruturais do receptor, bem como de ligantes bioativos, tornam-se importantes parâmetros no planejamento de fármacos. A modelagem molecular vem como uma alternativa aos métodos experimentais, como Difração de Raios X e de Ressonância Magnética Nuclear, sendo mais rápido e menos custoso à obtenção de informações

da relação receptor e ligante (BARREIRO, 2015, p. 231).

Uma das estratégias utilizadas pela modelagem molecular é o Planejamento de Fármacos Baseados na Estrutura do Receptor (SBDD, do inglês *Structure Based Drug Design*), utilizada quando a estrutura do alvo bioquímico e a ação de compostos bioativos são conhecidos (BARREIRO, 2015, p. 232). Dentre as várias técnicas *in silico* no planejamento de fármacos, torna-se interessante trabalhar com a estrutura do receptor biológico, quando disponível, pois possibilita obter informações detalhadas da estrutura receptor-ligante e das interações intermoleculares entre os mesmos. Essa metodologia compõe uma das técnicas mais utilizadas por pesquisadores universitários em pesquisa e desenvolvimento na indústria farmacêutica (CARVALHO, 2011; GODÓI et al., 2013).

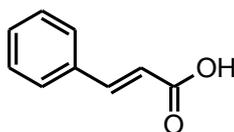
A ancoragem molecular, também conhecida como *docking* molecular, corresponde ao estudo das interações entre uma macromolécula com um micromolécula, destacando orientação e conformação dos mesmos. Permite avaliar soluções da interação proteína-ligante, servindo para destacar as razões moleculares que justifiquem a atividade para um ligante ativo, bem como para avaliar os efeitos das interações com um ligante desconhecido. Nesses estudos, 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).

## 2.5 FENILPROPANÓIDES

Estudos mostraram que compostos da classe dos fenilpropanóides apresentam relevante atividade viral (MURAKAMI et al., 2000). Recentemente, foi observado que o ácido cinâmico apresentou atividade virustática na replicação do ciclo viral de herpesvírus equino (GRAVINA et al., 2011) e derivados do ácido cinâmico, como os ácidos rosmarínico, cafeíco, ferúlico, entre outros, tem apresentado atividade antirretroviral descrita na literatura (BAILLY; COTELLE, 2005).

### 2.5.1 Ácido Cinâmico

O ácido cinâmico (1) também é chamado de ácido 3-fenilprop-2-enóico e apresenta estrutura representada pela Figura 7. Consiste em um ácido graxo aromático encontrado em óleo de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) e folhas de coca (*Erythroxylum coca*), juntamente com outros fenilpropanóides análogos como o cinnamaldeído e álcool cinâmico. Naturalmente encontrado na sua forma *trans* (LIU et al., 1995), esse ácido corresponde a um hormônio vegetal pertencente ao grupo das auxinas, responsáveis pelo crescimento e a diferenciação celular. Alguns de seus derivados desempenham o papel de defesa da planta contra microrganismos e insetos.



**Figura 7 – Representação estrutural do ácido cinâmico (1).**  
Fonte: Autoria própria.

Na busca de novos compostos farmacologicamente ativos, derivados do ácido cinâmico são considerados importantes e promissores por apresentarem elevado potencial para o desenvolvimento de fármacos (SOVA, 2012). Como é discutido por Wang e colaboradores (2012), vários ésteres, amidas e glicosídeos análogos do ácido cinâmico têm atraído muita atenção ao potencial farmacológico devido à sua atividade antiviral (ZHUANG et al., 2009; LEE et al., 2007), antiaterogênica (LAPEYRE et al., 2005), antitumoral (Hedvati et al., 2002; QIAN et al., 2010), antituberculose (BAIRWA et al., 2010; DE et al., 2011), antioxidante (GASPAR et al., 2009; MENEZES et al. 2011), antimalária, antifúngica, antidiabética, antiolesterolêmica, antihiperglicêmica, e anti-inflamatória (EKMEKCIOGLU et al., 1998; FU et al., 2010; GUSMAN, 2014; LONE; SHUAB; KOUL, 2013; NARASIMHAN; NIERO, 2010; SHARMA, 2011). Durante a realização do presente projeto, Glaser et al. (2015) reportaram que os cinamatos de timila e de eugenila possuem atividade contra esquis-

tossômulos e vermes adultos de *Schistosoma mansoni*.

Os principais compostos fenólicos encontrados no própolis brasileiras são o ácido cinâmico e seus metabólitos, ácido cafeíco, ácido ferúlico e o ácido *p*-cumárico. Estudos já relataram atividade antibacteriana, antifúngica, anti-inflamatória, cicatrizante e antitumoral de alguns tipos de própolis (CASTRO et al., 2007; CABRAL et al., 2009; SILVA et al., 2006; VICTORINO et al., 2009). Serkedjieva et al. (1992) em estudos *in vitro* com ésteres de ácido cinâmico substituídos, extraídos com acetato de etila de própolis, inibiram significativamente a infecção por vírus da influenza A H3N3.

### 3 OBJETIVO

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Buscando contribuir para os avanços no tratamento da infecção causada pelo HIV, o presente trabalho busca realizar estudos *in silico* para avaliar o potencial antirretroviral de ésteres e amidas derivados do ácido cinâmico, assim como uma proposta para a síntese de alguns ésteres derivados do ácido cinâmico.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Propor uma série de ésteres e amidas derivados do ácido cinâmico para terem seu potencial antirretroviral avaliado por ferramentas computacionais.
- Avaliar propriedades ADMET dos ésteres e amidas derivados do ácido cinâmico por meio de ferramentas computacionais.
- Realizar um estudo de ancoragem molecular dos ésteres e amidas derivados do ácido cinâmico com enzimas do ciclo de replicação do HIV-1.
- Avaliar uma metodologia para síntese, sintetizar e caracterizar alguns dos ésteres derivados de ácido cinâmico.

## 4 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

Para este trabalho foi proposta a avaliação *in silico* do potencial antirretroviral de cinamatos e cinamanidas (Figuras 8 e 9) preparados a partir de três álcoois, quatorze fenóis e oito aminas disponíveis em nosso laboratório de pesquisa. Também nesse trabalho, é proposta uma metodologia para a síntese dos derivados do ácido cinâmico, seguido da caracterização de cinco dos compostos propostos.

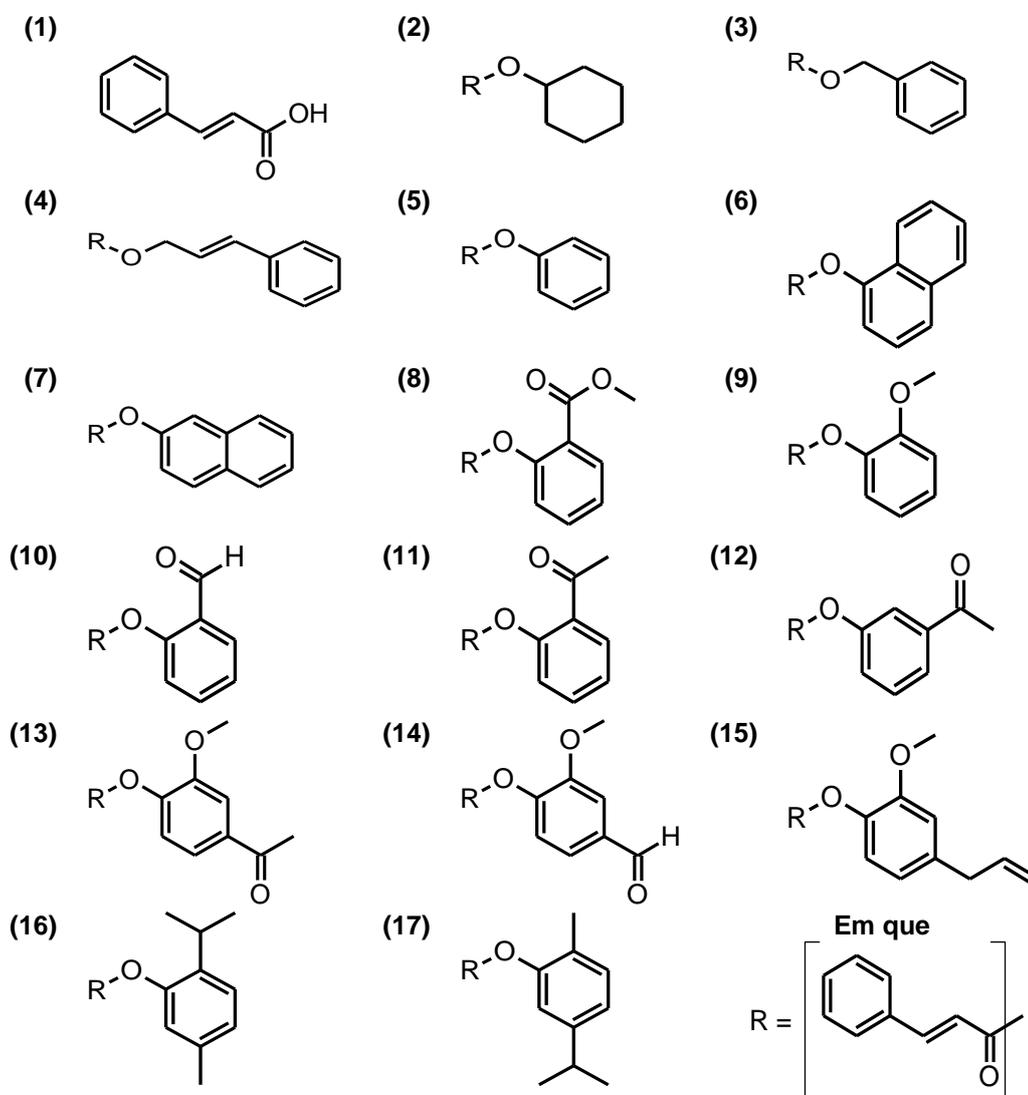


Figura 8 – Representação estrutural do ácido cinâmico (1) e dos cinamatos (2-17) avaliados nesse trabalho.

Fonte: Autoria própria.

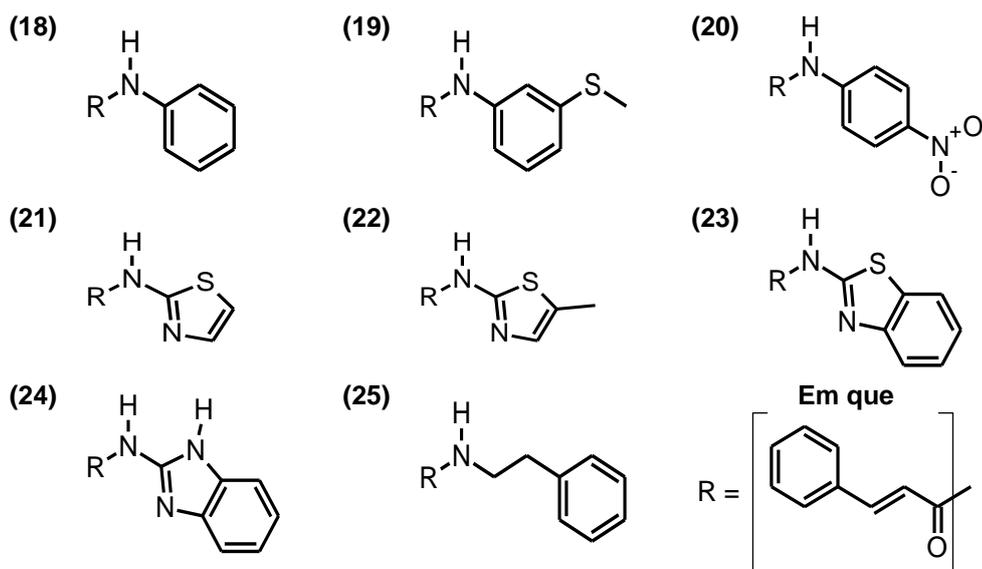


Figura 9 – Representação estrutural das cinamamidas (18-25) avaliadas nesse trabalho. Fonte: Autoria própria.

## 4.1 ESTUDOS *IN SILICO*

### 4.1.1 Estudo das Propriedades ADMET

Os estudos *in silico* com os cinamatos e cinamamidas tiveram início com a avaliação da biodisponibilidade oral realizada na ferramenta *Molinspiration Online PropertyCalculation Toolkit* ([www.molinspiration.com/](http://www.molinspiration.com/)), seguido da avaliação da toxicidade, da similaridade com os fármacos atualmente comercializados e de seu potencial farmacológico com o servidor *Osiris Property Explorer* ([www.organicchemistry.org/prog/peo/](http://www.organicchemistry.org/prog/peo/)). Também foi avaliada a absorção, a toxicidade e a metabolização dos candidatos a fármacos pela ferramenta *admetSAR* (<http://lmmd.ecust.edu.cn:8000/>). Então, o estudo *in silico* foi finalizado com a análise de ancoragem molecular, visando analisar orientação e afinidade dos derivados do ácido cinâmico utilizando o software *iGEMDOCK 2.1* com estruturas completas das enzimas do ciclo de replicação do vírus da imunodeficiência humana HIV-1 TR e HIV-1 PT selecionadas do *Protein Data Bank* (<http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>).

Fundamentado nas pesquisas de Lipinski et al. (1997) e Veber et al. (2002),

a ferramenta *Molinspiration* foi utilizada para avaliar o coeficiente de partição octanol/água (miLogP), a área superficial topológica polar (TPSA), a massa molar (MM), o número de aceptores e de doadores de ligação de hidrogênio (nALH e nDLH) e o número de bandas rotáveis (nrotb) dos derivados. Esses parâmetros estruturais são de grande importância na predição do perfil de biodisponibilidade oral, que estão associados a absorção e a permeabilidade de xenobióticos.

Efeito mutagênico, tumorigênico, irritante e sobre a reprodução foram avaliados utilizando o servidor *Osiris*. Este servidor também avaliou a similaridade do composto analisado com os fármacos comerciais no parâmetro *drug-likeness* e seu potencial farmacológico no parâmetro *drug-score*, que é um parâmetro que combina os valores obtidos de *drug-likeness*, miLogP, solubilidade, massa molar e riscos toxicológicos em um único valor.

Na ferramenta admetSAR, foi avaliado a permeabilidade na barreira hema-encefálica, absorção no intestino, permeabilidade Caco-2, se são substratos e inibidores de glicoproteínas P, que apresenta grande importância no transporte e fluxo de uma ampla gama de xenobióticos em diferentes tecidos, e se inibidores do transporte renal de cátions orgânicos no que diz respeito à absorção. A metabolização foi avaliada utilizando oito enzimas do Citocromo P450, aferindo se os compostos são substratos para os citocromos CYP450 2C9, CYP450 2D6, CYP450 3A4, se o compostos inibem os citocromos CYP450 1A2, CYP450 2C9, CYP450 2D6, CYP450 2C19, CYP450 3A4 e a promiscuidade de inibição dos citocromos. A determinação da capacidade mutagênica de compostos pelo teste de AMES, carcinogenicidade e toxicidade oral aguda foram os parâmetros toxicológicos avaliados nessa ferramenta (CHENG et al., 2012).

#### 4.1.2 Estudo de Ancoragem Molecular

O *docking* molecular visando estudar a orientação e a afinidade dos ésteres derivados do ácido cinâmico foram realizados no software *iGEMDOCK 2.1*. Após a avaliação de algumas das propriedades ADMET, foi iniciado o estudo de ancoragem molecular. Esse estudo contou com o uso de seis enzimas cuja estrutura foi obtida do *Protein Data Bank*. As enzimas utilizadas no estudo foram selecionadas após

uma busca na plataforma, baseado no método de caracterização, a resolução e a origem, sendo todas caracterizadas por difração de raio-x e oriundas do HIV. As HIV-1 TR escolhidas foram PDB 1TKX, PDB 1TL1 e PDB 1TL3, as PT foram PDB 1HXB, PDB 1OHR e PDB 2BPX. As características das enzimas utilizadas no estudo estão descritas na Tabela 1.

**Tabela 1 – Características das enzimas HIV-1 TP e HIV-1 PT utilizadas neste trabalho.**

PDB	Cadeias / Comprimento	Resolução (Å)	Ligantes externos	Autor
1TKX	A e B/1000 aa	2,85	4-[(ciclopropiletinil)oxi]-6-fluoro-3-isopropilquinolin- 2(1H)-ona – $C_{17}H_{16}FNO_2$	FREEMAN et al, 2004.
1TL1	A e B/1000 aa	2,90	6-cloro-4-(cicloexilsulfinil)-3-propilquinolin- 2(1H)-ona – $C_{18}H_{22}ClNO_2S$	HOPKINS et al., 2004.
1TL3	A e B/1000 aa	2,80	6-cloro-4-(cicloexiloxi)-3-isopropilquinolin- 2(1H)-ona – $C_{18}H_{22}ClNO_2$	HOPKINS et al., 2004.
1HXB	A e B/99 aa	2,30	Saquinavir – $C_{38}H_{50}N_6O_5$	KROHN et al., 1991.
1OHR	A e B/99 aa	2,10	Mesilato De Nelfinavir – $C_{32}H_{45}N_3O_4S$	KALDOR et al., 1997.
2BPX	A e B/99 aa	2,80	Indinavir – $C_{36}H_{47}N_5O_4$	MUNSHI et al., 1998.

aa – aminoácidos

**Fonte: Autoria Própria.**

As estruturas completas das enzimas HIV-1 TR e HIV-1 PT foram carregadas 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 carregados no formato ".mol", previamente otimizados a partir de cálculos de mecânica molecular baseado no campo de força MMFF94, utilizando o software Marvin Sketch 6.1.7. 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*".

#### 4.2 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE ÉSTERES DE ÁCIDO CINÂMICO

Para a síntese dos ésteres e amidas derivados do ácido cinâmico, foi utiliza-

da *N,N*-dicioexilcarbodiimida (DCC) como agente de acoplamento e a *N,N*-4-dimetilaminopiridina (DMAP), como catalisador. Para isso, foi adicionado 1,00 g de ácido cinâmico (6,75 mmol) e a quantidade equivalente ao mesmo número de mols do álcool/fenol/amina a ser utilizado, 2,10 g de DCC (10,12 mmol), 20,0 mL de diclorometano, 10 mol% de DMAP em um erlenmeyer de 150 mL com tampa. A reação permaneceu sob agitação magnética por 48-96 horas em temperatura ambiente e foi monitorada por cromatografias em camada delgada (CCD). Após o término da reação, o produto da reação foi filtrado para remoção da dicioexiluréia formada seguido da purificado por cromatografia em coluna. A purificação dos compostos foi realizada utilizando cromatografia em coluna de sílica gel 60 (Merck), com granulometria 70-230 mesh e os solventes usados foram acetato de etila e hexano destilados em gradiente de polaridade de acordo com a necessidade. As cromatografias em camada delgada analíticas, para monitoramento das reações e purificação dos produtos por cromatografia em coluna, foram efetuadas em placa de alumínio recobertas com sílica gel 60. A visualização dos compostos em CCD foi feita por irradiação com lâmpada de ultravioleta no comprimento de onda de 254 nm. Os compostos sintetizados foram caracterizados por ponto de fusão e por Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e DEPT. As análises de RMN foram realizadas na Universidade Estadual de Maringá, por intermédio do prof. Dr. Adley Forti Rubira.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados obtidos nesse trabalho foram divididos em duas sessões, a primeira foi dedicada aos estudos *in silico*, contendo a avaliação das propriedades ADMET e ancoragem molecular e a segunda com a discussão da síntese e caracterização dos ésteres derivados do ácido cinâmico.

### 5.1 ESTUDOS *IN SILICO*

Avaliando a biodisponibilidade de fármacos, Lipinski e colaboradores (1997) relacionaram as propriedades estruturais de xenobióticos a sua absorção, estabelecendo que para um fármaco ter boa biodisponibilidade oral, ele deve apresentar um  $\text{miLogP}$  menor ou igual a 5,00,  $\text{MM}$  menor ou igual a  $500 \text{ g.mol}^{-1}$ ,  $\text{nALH}$  menor ou igual a 10 e  $\text{nDLH}$  menor ou igual a 5. Compostos que excedem mais que um desses parâmetros poderão apresentar problemas de biodisponibilidade. Essa regra ficou conhecida como “Regra dos cinco” por apresentar valores de fronteira múltiplos de cinco. A área de superfície polar topológica (TPSA) também tem sido utilizada como bom descritor para caracterizar a absorção de um fármaco, incluindo a absorção no intestino, em células caco-2 que correspondem a uma importante célula de carcinoma do cólon humano que mimetizam o epitélio gastrointestinal, a barreira hematoencefálica e a biodisponibilidade (ERTL et al., 2000). Outro parâmetro relevante para predição da biodisponibilidade oral é a flexibilidade da molécula que pode estar associada ao número de bandas rotáveis, que corresponde ao número de ligações simples, fora de um anel, ligado a um átomo não terminal. Estudos realizados por Veber e colaboradores (2002) permitiu estabelecer que compostos com uma TPSA menor ou igual a  $140 \text{ \AA}^2$  e um  $\text{nrotb}$  menor ou igual a 10 apresentaram elevada probabilidade de boa biodisponibilidade oral. Esses parâmetros foram calculados utilizando a ferramenta *Molinspiration* e seus resultados estão apresentados na Tabela 2.

**Tabela 2 – Propriedades moleculares calculadas no software Molinspiration para o ácido cinâmico, cinamatos e cinamamidas.**

Comp.	miLogP	MM	nALH	nDLH	TPSA	nrotb
1	1,91	148,16	2	1	37,30	2
2	4,43	230,31	2	0	26,31	4
3	4,12	238,29	2	0	26,31	5
4	4,88	264,32	2	0	26,31	6
5	3,63	224,26	2	0	26,31	4
6	4,79	274,32	2	0	26,31	4
7	4,81	274,32	2	0	26,31	4
8	3,84	282,30	4	0	52,61	6
9	3,25	254,29	3	0	35,54	5
10	3,37	252,27	3	0	43,38	5
11	3,48	266,30	3	0	43,38	5
12	3,51	266,30	3	0	43,38	5
13	3,12	296,32	4	0	52,61	6
14	3,01	282,30	4	0	52,61	6
15	4,04	294,35	3	0	35,54	7
16	<b>5,05</b>	280,37	2	0	26,31	5
17	<b>5,52</b>	280,37	2	0	26,31	5
18	3,47	223,28	2	1	29,10	3
19	3,88	269,37	2	1	29,10	4
20	3,43	268,27	5	1	74,92	4
21	2,52	230,29	3	1	41,99	3
22	2,74	244,32	3	1	41,99	3
23	4,02	280,35	3	1	41,99	3
24	3,28	263,30	4	2	57,78	3
25	3,57	251,33	2	1	29,10	5

Fonte: Autoria Própria.

Observando os resultados ilustrados na Tabela 2, tem-se que somente os compostos **16** e **17** violam uma das propriedades da Regra dos Cinco de Lipinski, apresentando miLogP superior a cinco. Por violar somente um dos parâmetros, os dois compostos não tendem a apresentar problemas de biodisponibilidade oral. Além disso, todos os compostos avaliados apresentaram TPSA e nrotb favoráveis aos estudos de Veber e colaboradores (2002), indicando que os mesmos devem possuir uma boa absorção se administrados por via oral.

O segundo estudo foi realizado na ferramenta *Osiris*, utilizado para o cálculo da toxicidade dos compostos estudados. Esse servidor indica através de um esquema de cores o risco toxicológico de cada parâmetro, em que a cor vermelha corresponde a um alto risco, a amarela a um risco moderado e a verde a ausência risco. Também nessa mesma ferramenta foram calculados os valores de *drug-likenes* e *drug-score*. Valores de *drug-score* entre 0,1 e 1,0 e um valor positivo para *drug-likeness* indicam que a substância avaliada contém grupos frequentes em medicamentos comerciais. Os resultados obtidos nessa ferramenta estão na Tabela 3.

**Tabela 3 – Toxicidade, similaridade e potencial farmacológico, calculadas no software Osiris, para o ácido cinâmico, cinamatos e cinamamidas.**

Comp.	Toxicidade				Drug-likeness	Drug-score
	Mutagênico	Tumorigênico	Irritante	Reprodução		
1	Sem Risco	Sem Risco	<b>Alto Risco</b>	Sem Risco	- 1,10	0,36
2	Sem Risco	Sem Risco	<b>Alto Risco</b>	Sem Risco	- 8,83	0,24
3	Sem Risco	Sem Risco	<b>Alto Risco</b>	Sem Risco	- 15,92	0,25
4	Sem Risco	Sem Risco	<b>Alto Risco</b>	Sem Risco	- 4,26	0,22
5	Sem Risco	Sem Risco	<b>Alto Risco</b>	Sem Risco	- 3,81	0,25
6	Sem Risco	Sem Risco	<b>Alto Risco</b>	Sem Risco	- 4,04	0,18
7	Sem Risco	Sem Risco	<b>Alto Risco</b>	Sem Risco	- 5,44	0,17
8	Sem Risco	Sem Risco	<b>Alto Risco</b>	Sem Risco	- 5,13	0,24
9	Sem Risco	Sem Risco	<b>Alto Risco</b>	Sem Risco	- 2,63	0,26
10	Sem Risco	Sem Risco	<b>Alto Risco</b>	<b>Alto Risco</b>	- 6,64	0,14
11	Sem Risco	Sem Risco	<b>Alto Risco</b>	Sem Risco	- 2,92	0,24
12	Sem Risco	Sem Risco	<b>Alto Risco</b>	Sem Risco	- 6,79	0,23
13	Sem Risco	Sem Risco	<b>Alto Risco</b>	Sem Risco	- 1,51	0,27
14	Sem Risco	Sem Risco	<b>Alto Risco</b>	Sem Risco	- 5,36	0,24
15	Sem Risco	<b>Alto Risco</b>	<b>Alto Risco</b>	Sem Risco	- 3,84	0,12
16	Sem Risco	Sem Risco	<b>Alto Risco</b>	Sem Risco	- 6,58	0,17
17	Sem Risco	Sem Risco	<b>Alto Risco</b>	Sem Risco	- 6,14	0,17
18	Sem Risco	Sem Risco	Sem Risco	Sem Risco	- 2,95	0,44
19	Sem Risco	Sem Risco	Sem Risco	Sem Risco	- 1,26	0,44
20	Sem Risco	Sem Risco	Sem Risco	Sem Risco	- 16,53	0,41
21	Sem Risco	Sem Risco	Sem Risco	Sem Risco	- 0,66	0,58
22	Sem Risco	Sem Risco	Sem Risco	Sem Risco	- 0,40	0,57
23	Sem Risco	Sem Risco	Sem Risco	Sem Risco	- 0,31	0,49
24	Sem Risco	Sem Risco	Sem Risco	<b>Alto Risco</b>	- 0,36	0,33
25	Sem Risco	Sem Risco	Sem Risco	Sem Risco	- 0,43	0,58

Fonte: Autoria Própria.

A partir dos resultados obtidos pela ferramenta *Osiris*, foi possível observar que os compostos **1-17** foram classificados como irritantes, os compostos **10** e **24** foram classificados com risco a reprodução e o composto **15** foi classificado com efeito tumorigênico. Esse servidor se fundamenta no uso de bases de dados contendo moléculas tóxicas e não tóxicas, esse modelo é calibrado com as moléculas fragmentadas, a partir da quebra de ligações simples, resultando em fragmentos que inserem o efeito indesejado a molécula. A ferramenta, além de indicar a toxicidade, destacou que os compostos **1-17** foram classificados como irritantes devido a presença do fragmento **A**, ilustrado na Figura 10. Os fragmentos **B**, **C** e **D** também são classificados como irritantes por essa ferramenta e estão presentes nas moléculas **10**, **16** e **17**, respectivamente. O fragmento **B** também foi classificado como tendo efeitos a reprodução, juntamente com o fragmento **E** presente no derivado **24**. O fragmento **F**, encontrado no derivado **15**, foi classificado como tumorigênico.

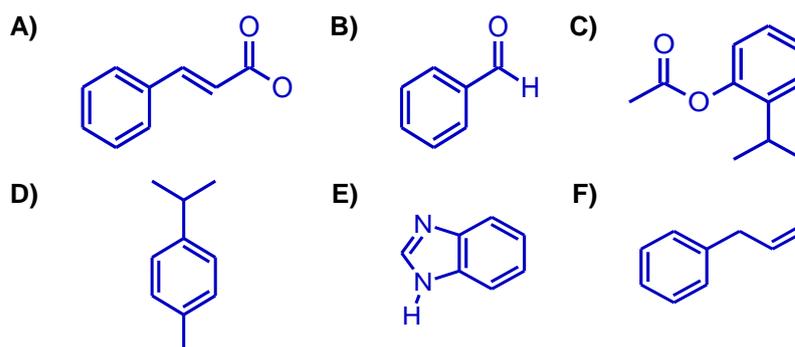


Figura 10 – Representação molecular dos fragmentos tóxicos pela ferramenta Osiris.  
Fonte: Autoria Própria.

Apesar dos efeitos indesejados apresentados pelos derivados propostos, a grande maioria dos compostos apresentaram uma redução da toxicidade quando comparados aos efeitos apresentados pelos álcoois, fenóis e aminas utilizados como reagentes nas sínteses. Os álcoois cicloexílico, benzílico e cinâmico, por exemplo, foram classificados pela mesma ferramenta como sendo mutagênicos, irritantes e com riscos a reprodução. Além disso, o álcool benzílico também foi classificado como tumorigênico, observa-se que a toxicidade foi reduzida com a derivação, em que os derivados somente foram classificados como irritantes. Os resultados de da avaliação da toxicidade dos demais fenóis e aminas precursores a formação dos cinamatos e cinamidas calculados na mesma ferramenta estão descritos na Tabela 4.

Tabela 4 – Toxicidade calculadas no software Osiris para os precursores sintéticos.

Comp.	Toxicidade				Comp.	Toxicidade			
	Mutag.	Tumor.	Irritan.	Repro.		Mutag.	Tumor.	Irritan.	Repro.
2*	AR	SR	AR	AR	14*	AR	SR	AR	AR
3*	AR	AR	AR	AR	15*	AR	AR	AR	SR
4*	AR	SR	AR	AR	16*	AR	SR	SR	AR
5*	AR	AR	AR	AR	17*	SR	SR	AR	SR
6*	AR	SR	AR	AR	18*	AR	AR	AR	AR
7*	AR	SR	AR	SR	19*	SR	SR	SR	SR
8*	AR	SR	AR	AR	20*	SR	SR	SR	SR
9*	SR	SR	AR	AR	21*	AR	SR	SR	SR
10*	AR	SR	AR	SR	22*	SR	SR	SR	SR
11*	SR	SR	SR	SR	23*	AR	SR	SR	SR
12*	SR	SR	SR	SR	24*	AR	SR	SR	AR
13*	AR	SR	SR	SR	25*	AR	SR	RM	SR

Mutag – Mutagênico; Tumor. – Tumorigênico; Irritan. – Irritante; Repro. – Efeitos à Reprodução; AR – Alto Risco; RM – Risco Moderado; SR – Sem risco; \*compostos em que R=H (Figuras 8 e 9).  
Fonte: Autoria Própria.

Os valores de *drug-likenes* obtidos foram todos negativos, sendo que as amidas **21-25** apresentaram os valores mais próximos de zero. Esses valores indicam que os compostos avaliados não apresentam similaridade estrutural com fármacos comerciais. Todavia, os valores de *drug-score* encontram-se entre 0,1 e 1,0, indicando que os compostos avaliados apresentam um potencial farmacológico, o que indica a necessidade de mais estudos acerca dos compostos avaliados.

Dando continuidade a avaliação das propriedades ADMET, foi iniciado os estudos com a ferramenta admetSAR. Com relação ao parâmetro absorção dos derivados propostos, foi possível observar que todos os derivados permeiam a barreira hematoencefálica, são absorvidos no intestino, permeiam células Caco-2, não inibem o transporte renal de cátions orgânicos e não são substratos da glicoproteína P.

Avaliando a toxicidade nessa mesma ferramenta, foi observado que os compostos **10, 11, 18, 19, 20, 21, 24 e 25** foram classificados como tóxicos pelo teste AMES e o derivado **24** foi classificado como carcinogênico. A toxicidade oral aguda foi classificada com base nas quatro categorias da Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos que divide os compostos de acordo com a dose letal mediana ( $DL_{50}$ ). Na categoria I encontram-se os compostos cuja  $DL_{50}$  assume valores menores que 50 mg/kg, a categoria II contém os compostos com  $DL_{50}$  que varia entre 50 mg/kg e 500 mg/kg, a categoria III contém os compostos com  $DL_{50}$  entre 500 mg/kg e 5000 mg/kg e a categoria IV contém os compostos cuja  $DL_{50}$  é maior que 5000 mg/kg. Somente o composto **3** foi classificado com uma  $DL_{50}$  maior que 5000 mg/kg, categoria IV, enquanto os demais apresentaram uma  $DL_{50}$  de 500 a 5000 mg/kg, correspondendo a categoria III.

Quando um xenobiótico é absorvido, seja por via oral ou por qualquer outra, o organismo passa a realizar uma série de reações enzimáticas para biotransformar o composto em metabolito de maior polaridade para ser eliminado pela urina. O metabolismo atua na eliminação dos xenobióticos, impedindo que fiquem por tempo indeterminado no organismo. Interações adversas entre fármacos causadas pela inibição de isoformas de citocromo P (CYP) são importantes parâmetros no planejamento de fármacos. A metabolização dos compostos foi avaliada com oito enzimas do CYP 450, avaliando se os compostos são substratos para as proteínas CYP450 2C9, CYP450 2D6 e CYP450 3A4, se o compostos inibem as proteínas CYP450 1A2, CYP450 2C9, CYP450 2D6, CYP450 2C19 e CYP450 3A4, responsáveis por cerca de 90% das reações de metabolização e a avaliação da promiscuidade de ini-

bição de CYP, que corresponde ao potencial de inibição de várias isoformas do CYP por um único composto, também foi avaliada na ferramenta admetSAR (CHENG et al., 2011). Os resultados estão apresentados na Tabela 5 .

A atuação como inibidor de enzimas do citocromo P 450 pode contribuir para a diminuição da metabolização de xenobióticos, reduzindo as defesas do corpo contra compostos absorvidos que devem ser eliminados pela sua toxicidade ser tóxicos. Portanto, a inibição dessas proteínas não são vantajosas para o organismo, pois essas estão atuando na defesa do organismo contra agentes químicos. A mesma ferramenta classificou os compostos **1** e **3** com baixa promiscuidade inibitória de citocromo, e os demais com alta promiscuidade, ou seja, a grande parte dos compostos atuarão como inibidores de isoformas de CYP 450.

Com a avaliação das propriedades ADMET foi possível observar que os compostos avaliados apresentam favoráveis propriedades para uma boa biodisponibilidade oral. Os compostos apresentaram a possibilidade de alguns efeitos tóxicos indesejados, porém, esses efeitos são significativamente menores que os presentes nos protagonistas da derivação. Os resultados também indicam que alguns dos compostos inibem algumas das enzimas do citocromo, sendo essa uma expressiva desvantagem encontrada nos compostos avaliados.

Tabela 5 – Resultados da avaliação da absorção, toxicidade e metabolização do ácido cinâmico (1), cinamatos (2-17) e cinamamidas (18-25) realizada na ferramenta admetSAR.

Parâmetros		Compostos																								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
Absorção	Permeiam a Barreira Hematoencefálica	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Absorção no Intestino Humano	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Permeabilidade em Células Caco-2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Substrato de Glicoproteína P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Inibidor de Glicoproteína P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Inibidor Transporte Renal de Cátions Orgânicos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Toxicidade	Toxicidade Pelo Teste AMES	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	
	Carcinogenicidade	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	
	Toxicidade Oral Aguda	III	III	VI	III																					
Metabolização	Substrato de CYP450 2C9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Substrato de CYP450 2D6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Substrato de CYP450 3A4	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Inibidor de CYP450 1A2	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
	Inibidor de CYP450 2C9	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+	-	+
	Inibidor de CYP450 2D6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Inibidor de CYP450 2C19	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+
	Inibidor de CYP450 3A4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Promiscuidade de inibição de isoformas de CYP450	B	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A

(+) – permeia/absorvido/substrato/inibidor; (-) – não permeia/não absorvido/não substrato/não inibidor; Toxicidade Oral Aguda com base nas categorias da Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (I –  $DL_{50} < 50$  mg/kg, II –  $50$  mg/kg <  $DL_{50} < 500$  mg/kg, III –  $500$  mg/kg <  $DL_{50} < 5000$  mg/kg e IV –  $DL_{50} > 5000$  mg/kg; A – Alta Promiscuidade de inibição de isoformas de CYP450; B – Baixa Promiscuidade de inibição de isoformas de CYP450

Fonte: Autoria Própria.

Para os estudos de ancoragem molecular com as enzimas TR, devido ao seu tamanho, utilizou-se como ambiente de estudo um raio de 30,0 Å ao redor do ligante cristalográfico. Já para as enzimas PT, foram utilizadas as estruturas completas. Com um tamanho de população de 300 foram gerados pela ferramenta iGEMDOCK 80 cálculos de energia de interação de confôrmeros dos compostos avaliados com as enzimas, variando a região da enzima e a conformação do ligante, resultando na região e na conformação de melhor energia. Esse cálculo foi repetido três vezes, indicando qual a interação mais favorável. O primeiro cálculo realizado foi utilizando as enzimas TR, cujos valores estão apresentados na Tabela 6.

**Tabela 6 – Energias, em kcal.mol<sup>-1</sup>, obtidas do estudo de ancoragem molecular, no software iGEMDOCK para as enzimas HIV-1 transcriptase reversa.**

	PDB 1TKX				PDB 1TL1				PDB 1TL3			
	Total	VDW	LH	ELT	Total	VDW	LH	ELT	Total	VDW	LH	ELT
1	<b>-63,30</b>	-60,00	-3,30	0,00	<b>-70,10</b>	-55,90	-13,20	-1,00	<b>-73,90</b>	-67,40	-6,50	0,00
2	<b>-87,80</b>	-84,30	-3,50	0,00	<b>-80,60</b>	-67,20	-13,50	0,00	<b>-82,20</b>	-77,60	-4,60	0,00
3	<b>-93,40</b>	-86,60	-6,80	0,00	<b>-98,90</b>	-90,00	-9,00	0,00	<b>-90,10</b>	-81,90	-8,20	0,00
4	<b>-93,70</b>	-90,20	-3,50	0,00	<b>-99,10</b>	-86,00	-13,10	0,00	<b>-92,00</b>	-88,50	-3,50	0,00
5	<b>-88,10</b>	-84,00	-4,20	0,00	<b>-90,20</b>	-80,90	-9,30	0,00	<b>-85,30</b>	-85,30	0,00	0,00
6	<b>-93,70</b>	-90,20	-3,50	0,00	<b>-92,00</b>	-83,50	-8,50	0,00	<b>-89,20</b>	-89,20	0,00	0,00
7	<b>-88,20</b>	-83,30	-5,00	0,00	<b>-88,80</b>	-85,40	-3,40	0,00	<b>-89,50</b>	-86,00	-3,50	0,00
8	<b>-101,10</b>	-84,60	-16,50	0,00	<b>-90,20</b>	-71,90	-18,30	0,00	<b>-98,80</b>	-90,20	-8,60	0,00
9	<b>-95,60</b>	-90,20	-5,40	0,00	<b>-88,80</b>	-77,50	-11,30	0,00	<b>-88,70</b>	-88,70	0,00	0,00
10	<b>-97,10</b>	-88,00	-9,20	0,00	<b>-86,20</b>	-85,00	-12,10	0,00	<b>-86,60</b>	-82,50	-4,10	0,00
11	<b>-98,40</b>	-89,80	-8,60	0,00	<b>-86,40</b>	-79,40	-7,00	0,00	<b>-95,10</b>	-92,40	-2,70	0,00
12	<b>-96,50</b>	-93,00	-3,50	0,00	<b>-93,00</b>	-87,20	-5,70	0,00	<b>-96,10</b>	-85,10	-11,10	0,00
13	<b>-102,30</b>	-95,30	-7,00	0,00	<b>-92,80</b>	-79,70	-13,10	0,00	<b>-102,70</b>	-99,60	-3,10	0,00
14	<b>-103,10</b>	-93,60	-9,50	0,00	<b>-92,30</b>	-78,30	-14,00	0,00	<b>-109,40</b>	-96,40	-13,00	0,00
15	<b>-100,10</b>	-94,10	-6,00	0,00	<b>-92,20</b>	-81,70	-10,50	0,00	<b>-97,60</b>	-96,10	-1,40	0,00
16	<b>-90,20</b>	-84,00	-6,20	0,00	<b>-100,80</b>	-89,00	-11,80	0,00	<b>-96,00</b>	-96,00	0,00	0,00
17	<b>-98,00</b>	-94,50	-3,50	0,00	<b>-95,90</b>	-88,90	-7,00	0,00	<b>-91,30</b>	-90,30	-1,00	0,00
18	<b>-89,00</b>	-82,20	-6,80	0,00	<b>-93,80</b>	-83,30	-10,50	0,00	<b>-84,20</b>	-80,70	-3,50	0,00
19	<b>-103,60</b>	-89,30	-14,30	0,00	<b>-85,80</b>	-77,10	-8,70	0,00	<b>-98,20</b>	-91,20	-7,00	0,00
20	<b>-97,40</b>	-83,60	-13,00	-0,80	<b>-96,40</b>	-84,70	-12,00	0,30	<b>-93,90</b>	-81,10	-12,00	-0,80
21	<b>-88,80</b>	-82,00	-6,70	0,00	<b>-84,60</b>	-76,00	-8,50	0,00	<b>-97,90</b>	-84,50	-13,40	0,00
22	<b>-98,00</b>	-84,30	-13,70	0,00	<b>-101,80</b>	-87,80	-14,00	0,00	<b>-100,60</b>	-87,80	-12,80	0,00
23	<b>-94,60</b>	-85,10	-9,50	0,00	<b>-90,40</b>	-79,80	-10,70	0,00	<b>-96,00</b>	-85,10	-10,80	0,00
24	<b>-102,20</b>	-86,70	-15,40	0,00	<b>-99,00</b>	-83,40	-15,60	0,00	<b>-104,20</b>	-88,60	-15,70	0,00
25	<b>-102,4</b>	-92,90	-9,50	0,00	<b>-88,40</b>	-80,90	-7,50	0,00	<b>-95,10</b>	-91,60	-3,50	0,00

Fonte: Autoria Própria

A partir dos resultados apresentados na Tabela 6 é possível observar que todos os compostos possuem energias favoráveis de interação enzima-ligante. Também é possível observar que as menores medias de energias de interação são apresentadas pelos compostos **24**, **14** e **22** e as maiores energias de interação são apresentadas pelos compostos **1**, **2** e **5**. A Tabela 7 apresenta os resultados das energias obtidas das interações dos ligantes avaliados com as enzimas PT.

**Tabela 7 – Energias, em kcal.mol<sup>-1</sup>, obtidas do estudo de ancoragem molecular, no software iGEMDOCK para as enzimas HIV-1 protease.**

	PDB 1HXB				PDB 1OHR				PDB 2BPX			
	Total	VDW	LH	ELT	Total	VDW	LH	ELT	Total	VDW	LH	ELT
1	<b>-62,90</b>	-45,90	-16,40	-0,60	<b>-63,10</b>	-46,40	-16,60	-0,10	<b>-60,50</b>	-44,90	-15,00	-0,60
2	<b>-77,10</b>	-66,60	-10,50	0,00	<b>-78,70</b>	-63,60	-15,10	0,00	<b>-76,50</b>	-62,50	-14,00	0,00
3	<b>-88,30</b>	-76,00	-12,40	0,00	<b>-82,60</b>	-72,30	-10,40	0,00	<b>-78,40</b>	-66,20	-12,20	0,00
4	<b>-90,30</b>	-83,30	-7,00	0,00	<b>-88,70</b>	-78,40	-10,30	0,00	<b>-92,80</b>	-82,80	-10,00	0,00
5	<b>-79,60</b>	-72,60	-7,00	0,00	<b>-76,60</b>	-69,60	-7,00	0,00	<b>-79,00</b>	-67,80	-11,20	0,00
6	<b>-89,10</b>	-82,10	-7,00	0,00	<b>-87,30</b>	-80,00	-7,30	0,00	<b>-91,90</b>	-78,10	-13,80	0,00
7	<b>-92,60</b>	-82,80	-9,80	0,00	<b>-92,00</b>	-79,80	-12,20	0,00	<b>-93,50</b>	-81,50	-12,10	0,00
8	<b>-91,20</b>	-67,10	-24,20	0,00	<b>-94,70</b>	-72,90	-21,80	0,00	<b>-91,20</b>	-77,20	-13,90	0,00
9	<b>-86,30</b>	-72,30	-14,00	0,00	<b>-85,00</b>	-73,20	-11,80	0,00	<b>-85,90</b>	-73,50	-12,50	0,00
10	<b>-89,60</b>	-72,60	-17,00	0,00	<b>-89,20</b>	-72,30	-17,00	0,00	<b>-92,10</b>	-72,60	-19,50	0,00
11	<b>-91,30</b>	-80,80	-10,50	0,00	<b>-87,80</b>	-71,80	-16,00	0,00	<b>-91,20</b>	-74,50	-16,70	0,00
12	<b>-90,50</b>	-79,80	-10,70	0,00	<b>-92,30</b>	-73,50	-18,80	0,00	<b>-92,90</b>	-76,40	-16,50	0,00
13	<b>-98,30</b>	-78,80	-19,40	0,00	<b>-97,50</b>	-77,60	-19,80	0,00	<b>-98,20</b>	-82,20	-16,10	0,00
14	<b>-90,70</b>	-76,90	-13,80	0,00	<b>-95,90</b>	-74,00	-21,90	0,00	<b>-95,50</b>	-75,30	-20,20	0,00
15	<b>-98,00</b>	-84,30	-13,60	0,00	<b>-93,80</b>	-83,30	-10,50	0,00	<b>-99,30</b>	-86,80	-12,50	0,00
16	<b>-87,20</b>	-74,80	-12,40	0,00	<b>-90,00</b>	-79,50	-10,50	0,00	<b>-89,90</b>	-81,00	-8,90	0,00
17	<b>-87,60</b>	-80,60	-7,00	0,00	<b>-91,00</b>	-78,50	-12,50	0,00	<b>-90,80</b>	-78,40	-12,50	0,00
18	<b>-78,60</b>	-72,70	-5,90	0,00	<b>-79,40</b>	-72,50	-6,90	0,00	<b>-78,00</b>	-63,20	-14,80	0,00
19	<b>-82,30</b>	-70,10	-12,30	0,00	<b>-82,20</b>	-68,70	-13,50	0,00	<b>-82,20</b>	-75,70	-6,40	0,00
20	<b>-92,90</b>	-71,30	-20,10	-1,50	<b>-100,70</b>	-69,60	-29,30	-1,80	<b>-103,20</b>	-74,30	-26,10	-2,90
21	<b>-81,40</b>	-63,40	-18,00	0,00	<b>-77,00</b>	-55,60	-21,40	0,00	<b>-79,20</b>	-59,20	-19,90	0,00
22	<b>-81,30</b>	-61,20	-20,10	0,00	<b>-78,70</b>	-61,70	-17,00	0,00	<b>-80,40</b>	-60,90	-19,50	0,00
23	<b>-86,10</b>	-79,10	-7,00	0,00	<b>-87,80</b>	-76,20	-11,60	0,00	<b>-91,90</b>	-75,00	-16,90	0,00
24	<b>-91,70</b>	-74,90	-16,80	0,00	<b>-90,60</b>	-73,80	-16,80	0,00	<b>-91,70</b>	-72,50	-19,20	0,00
25	<b>-87,50</b>	-74,40	-13,20	0,00	<b>-90,10</b>	-76,70	-13,40	0,00	<b>-90,20</b>	-76,70	-13,50	0,00

Fonte: Autoria Própria.

O estudo de ancoragem molecular entre as PT e os ligantes avaliados apresentaram resultados favoráveis de energia de interação e as menores médias de energias de interação foram observadas para os compostos **20**, **13** e **15** e as maiores energias de interação, novamente, foram para os compostos **1**, **2** e **5**.

Comparando os resultados obtidos nos dois estudos é possível observar que os *dockings* com as enzimas TR apresentaram menores energias de interação com os compostos avaliados do que o estudo com PT. Esta diferença fica mais evidente ao comparar as médias das energias de interação obtidas nos estudos (Tabela 8). A diferença de energia de interação pode ser associada a polaridade dos compostos, pois a TR apresenta um maior número de resíduos de aminoácidos com possibilidades de interações apolares como interações de van der Waals (VDW). Sendo os compostos avaliados de grande caráter apolar, um número maior de interações do tipo VDW resultou em melhores valores de interação para os estudos com as enzimas TR. Apesar de uma interação do tipo ligação de hidrogênio (LH) ser mais fortes que uma interação do tipo VDW, o número de interações entre os compostos (**1-25**) no estudo com as enzimas PT foi inferior ao estudo com as enzimas TR, resultando em uma energia de interação total inferior.

**Tabela 8 – Médias das energias obtidas, em kcal.mol<sup>-1</sup>, do estudo de ancoragem molecular.**

Comp.	HIV-1 TR			HIV-1 PT			Comp.	HIV-1 TR			HIV-1 PT		
	Total	VDW	LH	Total	VDW	LH		Total	VDW	LH	Total	VDW	LH
<b>1</b>	<b>-69,1</b>	-61,1	-7,7	<b>-62,2</b>	-45,7	-16,0	<b>14</b>	<b>-101,6</b>	-89,4	-12,2	<b>-94,0</b>	-75,4	-18,6
<b>2</b>	<b>-83,5</b>	-76,4	-7,2	<b>-77,4</b>	-64,2	-13,2	<b>15</b>	<b>-96,6</b>	-90,6	-6,0	<b>-97,0</b>	-84,8	-12,2
<b>3</b>	<b>-94,1</b>	-86,2	-8,0	<b>-83,1</b>	-71,5	-11,7	<b>16</b>	<b>-95,7</b>	-89,7	-6,0	<b>-89,0</b>	-78,4	-10,6
<b>4</b>	<b>-94,9</b>	-88,2	-6,7	<b>-90,6</b>	-81,5	-9,1	<b>17</b>	<b>-95,1</b>	-91,2	-3,8	<b>-89,8</b>	-79,2	-10,7
<b>5</b>	<b>-87,9</b>	-83,4	-4,5	<b>-78,4</b>	-70,0	-8,4	<b>18</b>	<b>-89,0</b>	-82,1	-6,9	<b>-78,7</b>	-69,5	-9,2
<b>6</b>	<b>-91,6</b>	-87,6	-4,0	<b>-89,4</b>	-80,1	-9,4	<b>19</b>	<b>-95,9</b>	-85,9	-10,0	<b>-82,2</b>	-71,5	-10,7
<b>7</b>	<b>-88,8</b>	-84,9	-4,0	<b>-92,7</b>	-81,4	-11,4	<b>20</b>	<b>-95,9</b>	-83,1	-12,3	<b>-98,9</b>	-71,7	-25,2
<b>8</b>	<b>-96,7</b>	-82,2	-14,5	<b>-92,4</b>	-72,4	-20,0	<b>21</b>	<b>-90,4</b>	-80,8	-9,5	<b>-79,2</b>	-59,4	-19,8
<b>9</b>	<b>-91,0</b>	-85,5	-5,6	<b>-85,7</b>	-73,0	-12,8	<b>22</b>	<b>-100,1</b>	-86,6	-13,5	<b>-80,1</b>	-61,3	-18,9
<b>10</b>	<b>-90,0</b>	-85,2	-8,5	<b>-90,3</b>	-72,5	-17,8	<b>23</b>	<b>-93,6</b>	-83,33	-10,3	<b>-88,6</b>	-76,77	-11,8
<b>11</b>	<b>-93,3</b>	-87,2	-6,1	<b>-90,1</b>	-75,7	-14,4	<b>24</b>	<b>-101,8</b>	-86,2	-15,5	<b>-91,3</b>	-73,7	-17,6
<b>12</b>	<b>-95,2</b>	-88,4	-6,8	<b>-91,9</b>	-76,6	-15,3	<b>25</b>	<b>-95,3</b>	-88,4	-6,8	<b>-89,2</b>	-75,9	-13,3
<b>13</b>	<b>-99,3</b>	-91,5	-7,7	<b>-98,0</b>	-79,5	-18,4							

Fonte: Autoria Própria.

Entre as enzimas avaliadas, as enzimas TR apresentaram maior energia de interação com os derivados avaliados. Já as proteases, apesar de apresentarem maiores valores de interação para o componente Ligação de Hidrogênio, obtiveram menor energia de interação com os ligantes avaliados.

Com importância equivalente à avaliação da energia de interação, a região onde ocorre a interação também foi avaliada nesse estudo. Nos testes de ancoragem molecular as enzimas assumem uma estrutura rígida e os ligantes a serem avaliados tem sua conformação modificada pelo software afim de avaliar a melhor interação entre os mesmos. Desse modo, não se pode propor a inibição enzimática se o ligante em estudo não estiver ocupando o sítio ativo da enzima. Uma interação ao redor do sítio catalítico pode mudar a conformação do sítio impedindo que a enzima possa executar sua função, porém, as mudanças conformacionais da enzima não ocorrem nesse modelo que tem a estrutura da enzima rígida, sendo essa uma das principais limitações desse tipo de estudo (HSU et al, 2011). Então, para se justificar a possível atividade dos compostos avaliados que apresentaram relevantes energias de interação, foi avaliado se os ligantes estão no sítio ativo das enzimas.

Nos estudos realizados com as TR, os ligantes avaliados se dividiram em grupos, como pode ser observado nas Figuras 11, 12 e 13 (imagens com maior resolução das mesmas representações são apresentadas no Anexo I). As imagens, além de trazer a representação das interações dos derivados de ácido cinâmico com a enzima TR, também ilustram as interações dos compostos com os resíduos de aminoácidos da enzima em perfil hierárquico. Nele é destacado na parte superior, o tipo de interação, por LH ou por VDW representados pelas letras H e V, a cadeia a qual o resíduo pertence, principal ou lateral, utilizando as letras M e S, seguido do resíduo de aminoácido e de seu número. No quadro, as interações são coloridas em verde quando a energia for menor que -4,0. As ligações de hidrogênio são coloridas em verde, se a energia for inferior a -2,5 e quanto mais intensa a coloração verde mais forte a interação. A direita se encontram a identificação numérica dos compostos, seguido da terminação '.pdb' e a esquerda um dendograma agrupando as amostras por similaridade. Para o agrupamento, cada composto é unido em função do grau de similaridade, formando grupos que se unem com novos compostos ou grupos até chegar em um único grupo que contém todas as amostras. Uma menor distância dos grupos corresponde a uma maior similaridade e uma maior distância o oposto.

Na Figura 11 que representa o estudo de ancoragem molecular com a enzima TR PDB 1TKX, os compostos foram divididos em cinco grupos: o Grupo 1 é formado por um único composto, o ácido cinâmico (1), o Grupo 2 é formado pelo composto 13, o Grupo 3 é formado pelos compostos 7, 23, 18 e 22, o Grupo 4 pelo composto 19, e o Grupo 5, pelos demais compostos, 12, 15, 14, 10, 25, 20, 3, 6, 16, 4, 17, 9, 11, 24, 5, 6, 2 e 21.

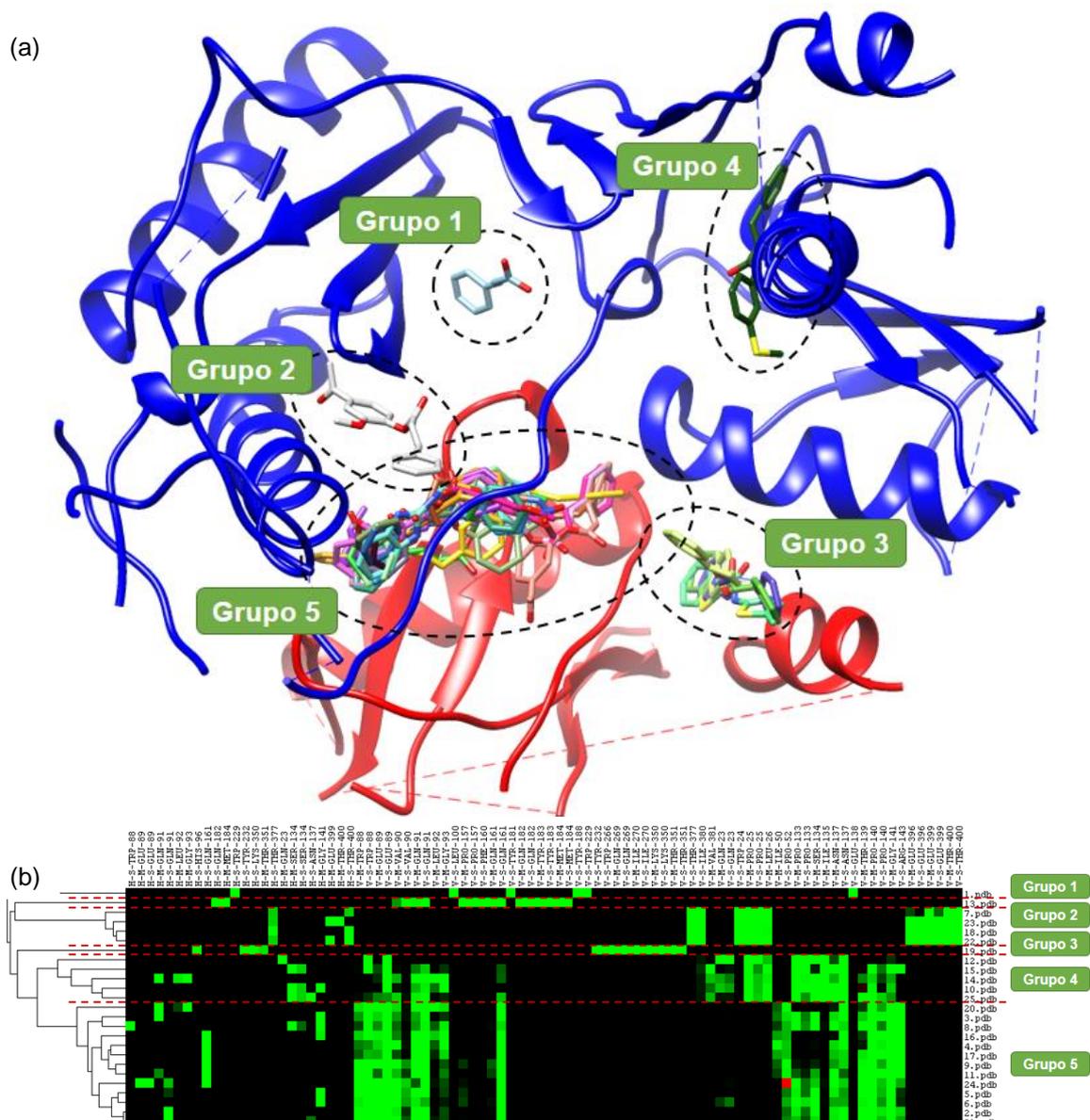


Figura 11 – (a) Representação das interações dos derivados avaliados com a enzima TR PDB 1TKX obtidas no estudo de ancoragem molecular realizado na ferramenta iGEMDOCK e (b) agrupamento hierárquico do perfil de interação dos ligantes.

Fonte: Autoria Própria.

No estudo realizado com a enzima TR PDB 1TL1 (Figura 12), os compostos





presença de um NNRTI no sítio alostérico resulta em um reposicionamento das três folhas beta na subunidade p66, onde se encontram os três resíduos de aspartato que compõem a tríade catalítica, gerando uma conformação inativa da proteína (FREITAS, 2006, p. 28). O sítio alostérico é envolto pelos resíduos de aminoácidos Leu-100, Lys-101, Lys-103, Val-179, Ile-180, Tyr-181, Tyr-188, Phe-227, Trp-229, His-235 e Tyr-318.

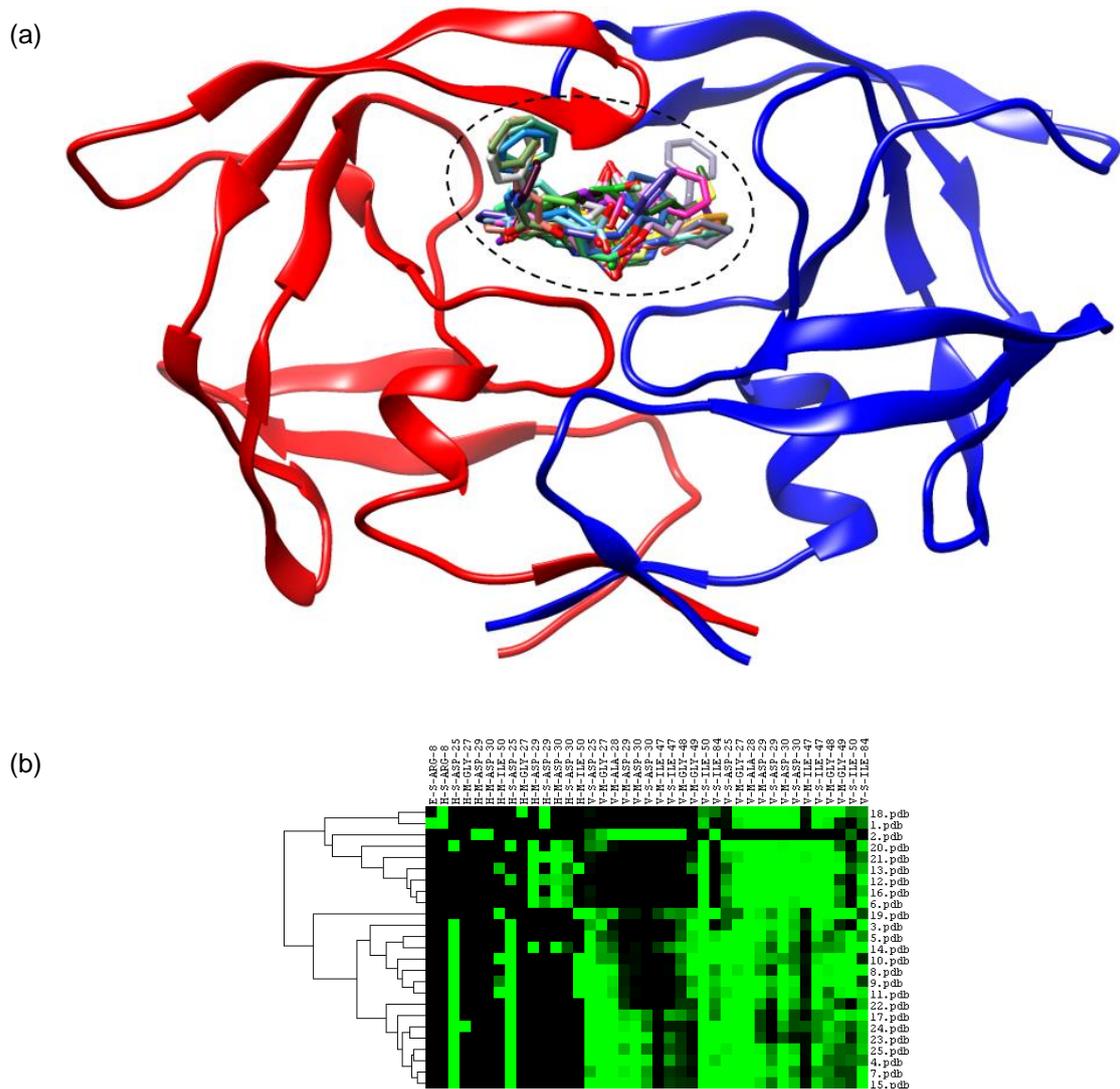
Observando os clusters, tem-se que não foram muitas as interações que ocorreram com os resíduos de aminoácidos que constituem o sítio alostérico. No estudo com a enzima TR PDB 1TKX, somente o ácido cinâmico ancorou no interior do sítio alostérico, interagindo com os resíduos Leu-100, Tyr-181, Tyr-188 e Trp-229. Somente os compostos **8** e **6**, que formam o Grupo 1, interagem com apenas um dos resíduos do sítio alostérico, com o resíduo de Tyr-181, interagindo por LH e por interações de VDW, no estudo com a enzima TR PDB 1TL1. O compostos pertencentes ao Grupo 3, do estudo com a TR PDB 1TL3, apresentaram melhores interações estão ancorados no interior do sítio alostérico, em estabelecendo interações com resíduos Leu-100, Val-179 e Tyr-181. Somente o composto **15** do grupo não interage com o Trp-229, além disso, os compostos **9**, **11**, **15** e **16** também interagem com o resíduo Phe-227 e **15** e **16** interagem com Tyr-318. Os compostos **14**, **21** e **22**, pertencentes ao Grupo 2, também apresentaram interações do tipo ligação de hidrogênio com o resíduo de Tyr-181. A região em que se encontra o ligante cristalográfico e o sítio catalítico, bem como os grupos formados no *docking* podem ser visualizados nas imagens do Anexo I.

Apesar dos compostos avaliados estabelecerem algumas interações com os resíduos de aminoácidos que constituem o sítio alostérico, poucas das interações poderiam ser usadas para justificar a inibição da enzima pelo uso dos compostos. Somente o ácido cinâmico, no estudo com a TR PDB 1TKX e os compostos do Grupo 3 do estudo TR PDB 1TL3 ocupam o interior do sítio alostérico, que possibilitaria a mudança de conformação que justifica a atividade dos NNRTIs, que não é avaliada nesse trabalho por ser utilizado um modelo que mantém a enzima com uma estrutura rígida.

Como pode ser observado nas Figuras 14, 15 e 16, nos estudos de ancoragem molecular realizados para as enzimas PT, todos os compostos estão ancorados na região do sítio alostérico da enzima, se organizando em um único grupo.







**Figura 16 – (a) Representação das interações dos derivados avaliados com a enzima TR PDB 2BPX obtidas no estudo de ancoragem molecular realizado na ferramenta iGEMDOCK e (b) agrupamento hierárquico do perfil de interação dos ligantes.**  
**Fonte: Autoria Própria.**

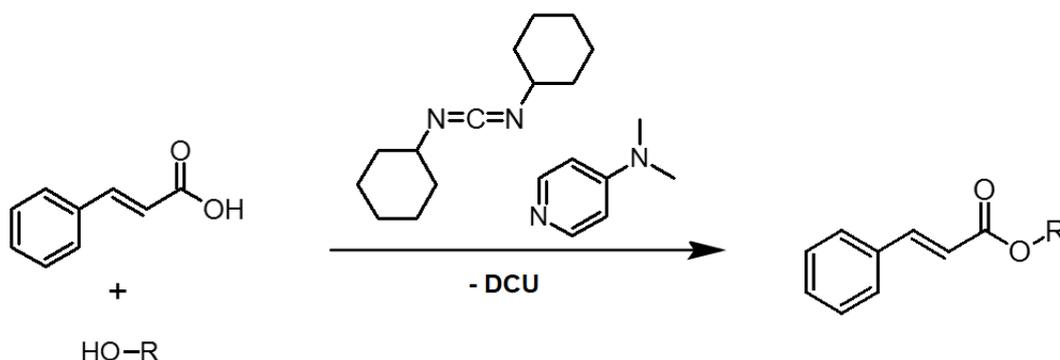
Observando os clusters dos estudos realizados com as enzimas PT é possível observar favoráveis interações com o sítio alostérico. A grande parte dos compostos apresentaram interações com os resíduos Asp-25 e Gly-27, que compõem a tríade catalítica, assim como os resíduos Asp-29, Asp-30, Ile-47, Gly-48, Gly-49 e Ile-50 indicando que as moléculas se encontram no interior do sítio alostérico.

Apesar dos estudos realizados com as enzimas TR apresentarem menores valores de energia de interação, grande parte dos compostos não interagiram em uma região favorável a uma inibição da enzima TR. Já o estudo realizado com as enzimas PT que apresentaram uma energia de interação inferior, tem seus resultados favorecidos pela região em que se obteve a melhor energia de interação enzi-

ma-ligante, no interior do sítio alostérico. Com interações favoráveis em energia e localização, o estudo de ancoragem molecular indica um maior potencial de inibição da enzima PT, sendo a região de interação enzima-ligante o principal fator para essa conclusão.

## 5.2 SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE ÉSTERES DE ÁCIDO CINÂMICO

Os ésteres derivados do ácido cinâmico foram obtidos por meio da metodologia proposta por Steglich (1978). Essa metodologia consiste em uma reação de esterificação por meio do acoplamento do ácido cinâmico com DCC e o uso do catalisador nucleofílico DMAP, seguindo a reação ilustrada na Figura 17.



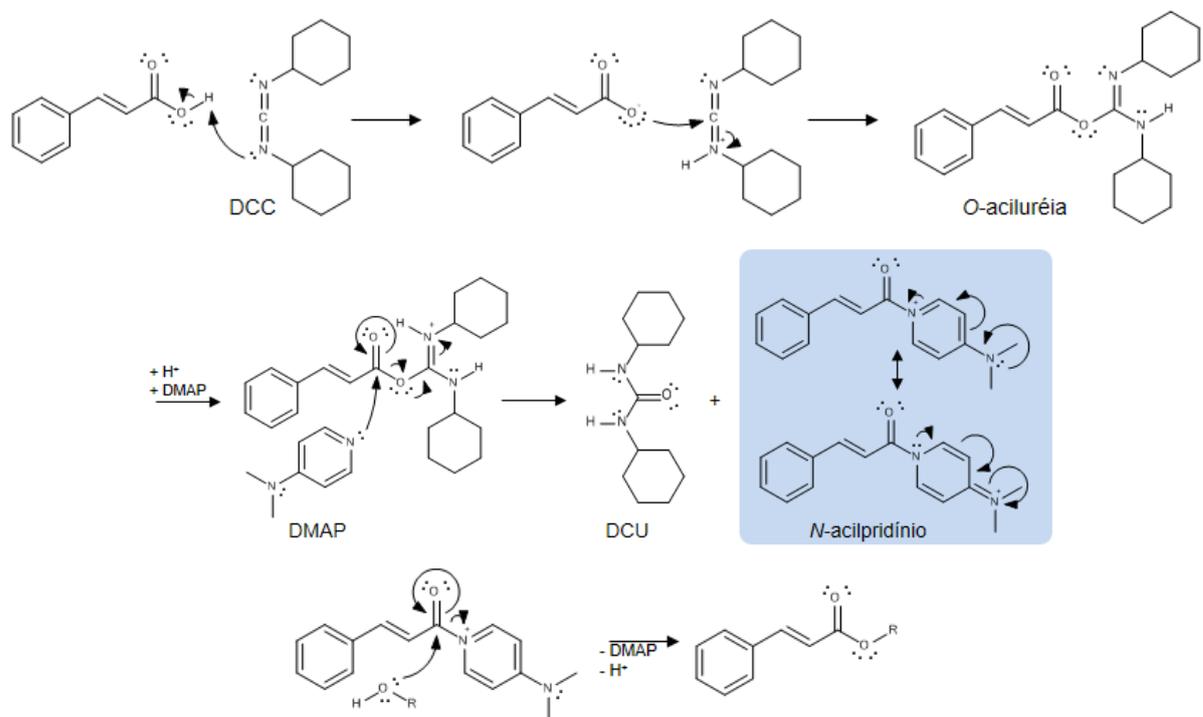
**Figura 17 – Representação genérica para a reação síntese dos ésteres a partir do ácido cinâmico (1).**

**Fonte: Autoria Própria.**

Foram sintetizados e caracterizados cinco dos compostos avaliados nos estudos *in silico*, os cinamatos de guaiacoila (**9**; HIRAO; YABUUCHI, 1994), de 3-acetofenonila (**12**; UM et al. 2007), de vanilnila (**14**; DIKUSAR; KOZLOV, 2005), de eugenila (**15**; SHIN et al., 1996; TAWATA et al., 1996) e de timila (**16**; KUMBHAR et al., 2000) obtendo um rendimento médio de 60%.

O mecanismo da reação de esterificação de Steglich tem início com a desprotonação do ácido carboxílico por um dos nitrogênios da DCC, seguido pelo ataque do par de elétrons do oxigênio desprotonado ao carbono imídico resultando em

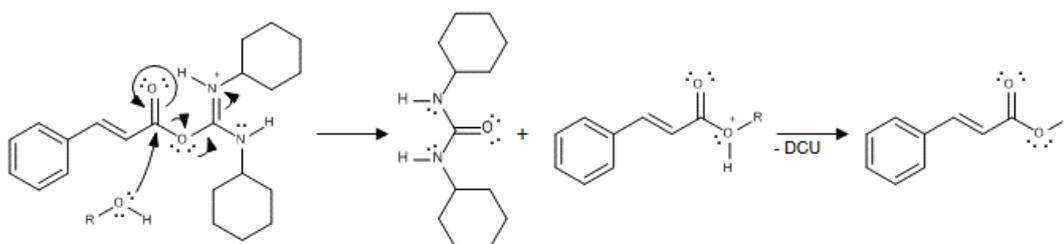
O-aciluréia. Esse intermediário é reportado com reatividade equivalente ao anidrido do ácido em questão, no caso, o ácido cinâmico. Como a DMAP é um nucleófilo bem mais reativo que o álcoois e fenóis utilizados, ela ataca o carbono carbonílico do ácido, eliminando a diciclohexiluréia (DCU) e formando o intermediário *N*-acilpiridínio. O uso da DMAP como catalisador permite a formação de um intermediário mais reativo que a *O*-aciluréia e evita reações laterais, melhorando o rendimento da reação. O carbono carbonílico da amida formada apresenta grande eletrofilicidade, facilitando o ataque do oxigênio do álcool ou fenol e resultando na formação do éster protonado (Esquema 1) (PASSO, 2012, p. 49).



**Esquema 1 – Mecanismo de esterificação do ácido cinâmico com álcool ou fenol utilizando DCC como agente de acoplamento e DMAP como catalisador.**  
 Fonte: Adaptado de PASSO (2012, p. 49).

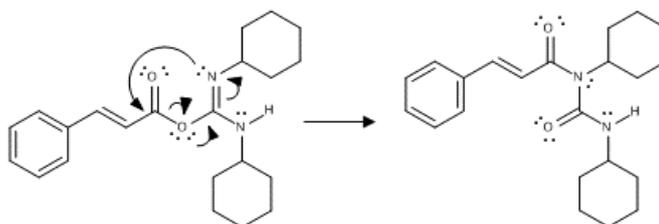
A reação sem a adição do catalisador também ocorre. Nesse caso, a *O*-aciluréia captura um próton do meio reacionário aumentando a eletrofilicidade do carbono carbonílico por efeito indutivo e de ressonância. Então, ocorre um ataque nucleofílico ao carbono carbonílico pela hidroxila do álcool ou fenol em questão, seguido da eliminação da DCU, formando o éster protonado, como ilustrado no Es-

quema 2. Contudo, nucleófilos pouco reativos, como os fenóis protonados, permitem a formação de subprodutos indesejados, como a tautomerização da *O*-aciluréia ilustrada no Esquema 3, formando *N*-aciluréia, que é inerte nessas condições reacionais (PASSO, 2012, p. 50).



**Esquema 2 – Mecanismo de esterificação do ácido cinâmico com álcool ou fenol utilizando DCC como agente de acoplamento.**

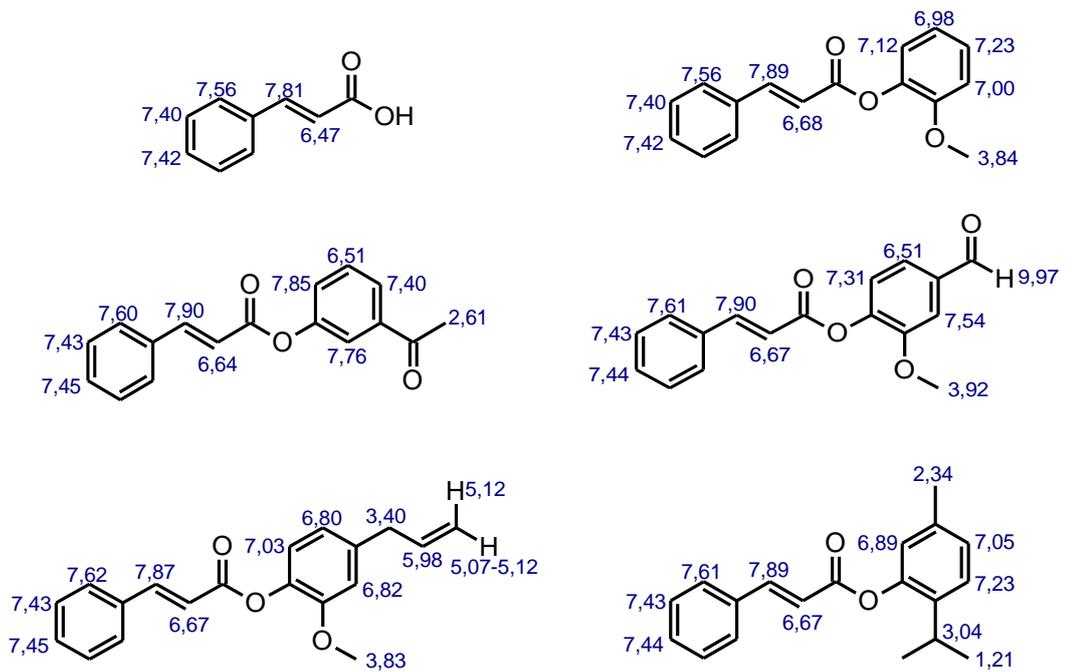
Fonte: Adaptado de PASSO (2012, p. 50).



**Esquema 3 – Mecanismo de tautomerização da *O*-aciluréia em *N*-aciluréia.**

Fonte: Adaptado de PASSO (2012, p. 50).

Os cinco compostos produzidos foram caracterizados por RMN (Anexo II). Foram avaliados e distribuídos os deslocamentos químicos de  $^1\text{H}$ , pelo perfil dos sinais observados nos espectros, e de  $^{13}\text{C}$ , pela comparação com os deslocamentos obtidos na literatura para os acetatos dos fenóis avaliados. Os deslocamentos químicos estão descritos nas figuras 18 e 19. Os compostos sintetizados já são reportados na literatura, com espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$ , todavia, a atribuição dos deslocamentos químicos de hidrogênio e de carbono não haviam sido realizados.



**Figura 18 – Deslocamentos Químicos de  $^1\text{H}$  do ácido cinâmico (1) e dos cinamatos (9, 12, 14-16) sintetizados.**

**Fonte: Autoria Própria.**

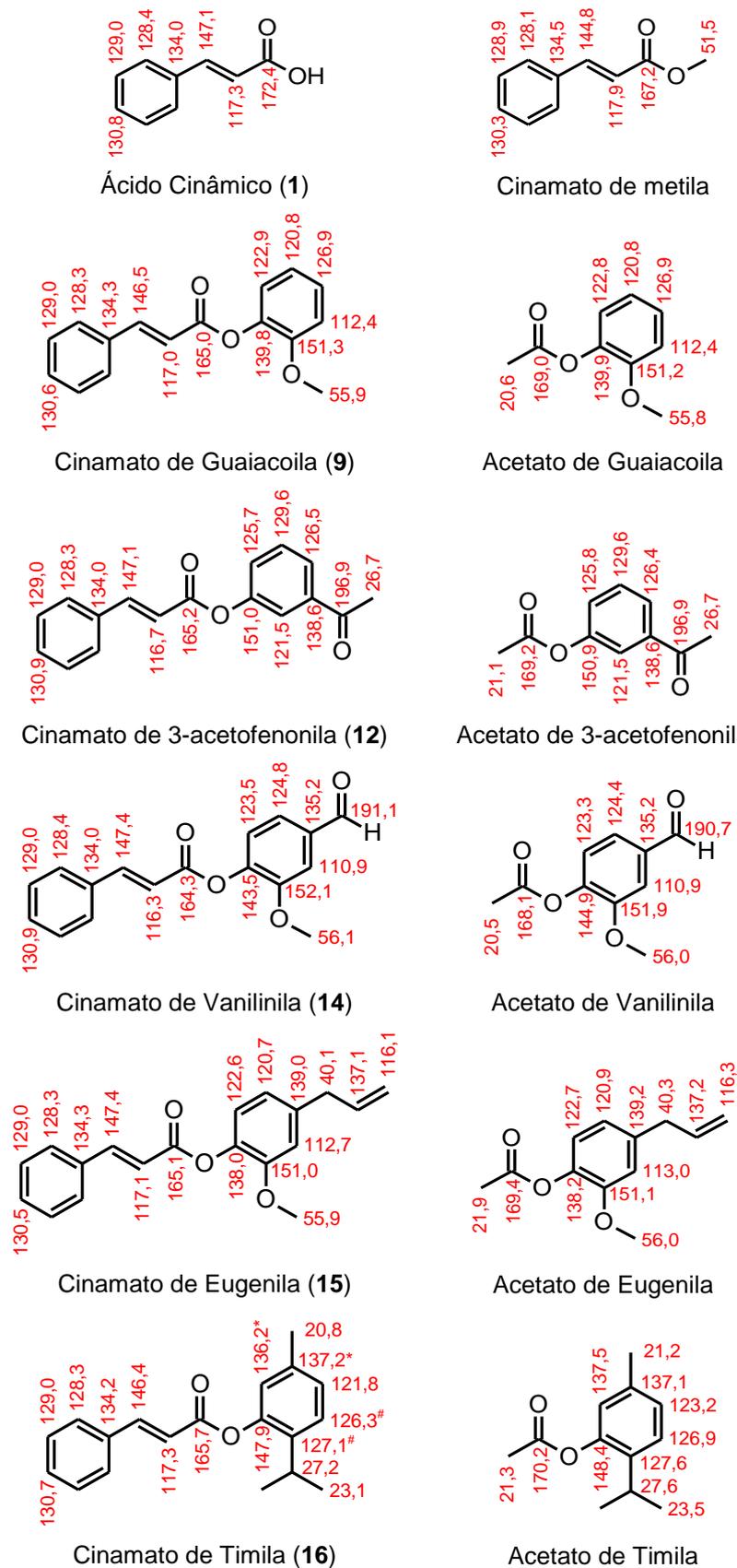


Figura 19 – Deslocamentos Químicos de  $^{13}\text{C}$  do ácido cinâmico (1), dos cinamatos (9, 12, 14-16) e dos ésteres utilizados como modelo na atribuição dos deslocamentos.  
 Fonte: Autoria Própria.

Os deslocamentos químicos do cinamato de metila, e dos acetatos de guaiacoila, de 3-acetofenonila e de timila foram obtidos no servidor *Spectral Database for Organic Compounds SDBS* ([http://sdb.sdb.aist.go.jp/sdb/cgi-bin/cre\\_search.cgi](http://sdb.sdb.aist.go.jp/sdb/cgi-bin/cre_search.cgi)) e os de vanilina e de eugenila dos trabalhos de Pelter et al. (1976) e Affonso et al. (2014).

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com a avaliação das propriedades ADMET dos compostos **1-25** foi possível observar favoráveis propriedades para uma boa biodisponibilidade oral. Os compostos **1-18** e **24** apresentaram a possibilidade de alguns efeitos tóxicos indesejados, porém, esses efeitos são reduzidos se comparados aos protagonistas da derivação. Os resultados também indicam que todos os dos compostos inibem algumas das isoformas do citocromo P 450, sendo essa uma expressiva desvantagem encontrada nos compostos avaliados, pois essas proteínas são responsáveis pela defesa do corpo contra xenobióticos.

O estudo de ancoragem molecular destacou baixas energias de interação entre as enzimas e os ligantes, sendo inferiores a  $-60,00 \text{ kcal.mol}^{-1}$ . Comparando os resultados obtidos nos dois estudos é possível observar que os *dockings* com as enzimas TR apresentaram menores energias de interação com os compostos avaliados. As PT apresentaram energias de interação próximas as obtidas nos estudos com as enzimas TR, porém, inferiores.

Apesar dos estudos realizados com as enzimas TR apresentarem menores valores de energia de interação, grande parte dos compostos não interagiram em uma região favorável a uma inibição da enzima. Já o estudo realizado com as enzimas PT tiveram seus resultados favorecidos pela região em que os compostos obtiveram a melhor energia de interação enzima-ligante, no interior do sítio alostérico. Com interações favoráveis em energia e localização, o estudo de ancoragem molecular indica um maior potencial de inibição da enzima PT, sendo a região de interação enzima-ligante o principal fator para essa conclusão.

As sínteses dos compostos **9, 12, 14, 15** e **16** foram realizadas com êxito, obtendo um rendimento de reação próximo de 60%. Com os resultados de espectroscopia de RMN, foi possível realizar a atribuição dos deslocamentos químicos dos átomos de hidrogênio e de carbono.

O resultados obtidos no trabalho servem de início ao longo e trabalhoso processo de planejamento de um fármaco para o tratamento do HIV. Os compostos apresentaram boas propriedades ADMET e uma favorável interação com a enzima HIV-1 PT no estudo de ancoragem molecular. Desse modo, os resultados mostram a necessidade mais estudos computacionais para se confirmar os resultados obtidos

acerca das propriedades ADMET e novos estudos de ancoragem molecular por modelos mais dinâmicos para resultados mais precisos. Além disso, o trabalho poderá ser continuado com a síntese dos demais compostos realizar estudos *in vitro* do potencial de inibição de HIV-1 protease seguido de estudos *in vivo* na presença de resultados favoráveis.

## REFERÊNCIAS

AFFONSO, Raphael S. et al. Quantificação e Caracterização dos Principais Componentes do Extrato Etanólico de Cravo-da-Índia *Syzygium aromaticum*. **Revista Virtual de Química**, v. 6, n. 5, p. 1316-1331, 2014

BAILLY, Fabrice; COTELLE, Philippe. Anti-HIV activities of natural antioxidant caffeic acid derivatives: toward an antiviral supplementation diet. **Current Medicinal Chemistry**, v. 12, p. 1811-1818, 2005.

BAIRWA, Ranjeet et al. Novel molecular hybrids of cinnamic acids and guanylhydrazones as potential antitubercular agentes. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 20, p. 1623-1625, 2010.

BARREIRO, Eliezer J. **Química Medicinal: as bases moleculares da ação dos fármacos**. 3º ed. Porto Alegre: Artmed, 2015.

CABRAL, Ingridy S. R. et al. Composição fenólica, atividade antibacteriana e antioxidante da própolis vermelha brasileira. **Química Nova**, v.32, n.6, p. 1523-1527, 2009.

CARVALHO, Luciana L. de. **Modelagem Molecular de uma Série de Compostos inibidores da Enzima Integrase do Vírus HIV-1**. 2011. 112 f. Tese (Doutorado em Físico-química) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Carlos, São Carlos, 2011.

CASTRO, Myrella L. et al. Própolis do sudeste e nordeste do Brasil: influência da sazonalidade na atividade antibacteriana e composição fenólica. **Química Nova**, v.30, n.7, p. 1512-1516, 2007.

CHENG, Feixiong et al. admetSAR: a comprehensive source and free tool for evaluating chemical ADMET properties. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v.52, n.11, p. 3099-3105, 2012.

CHENG, Feixiong et al. Insights into Molecular Basis of Cytochrome P450 Inhibitory Promiscuity of Compounds. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v.51, n.10, p. 2482-2495, 2011.

COCCARO, Ersilia et al. Antiviral Drugs that Target Cellular Proteins May Play Major Roles in Combating HIV Resistance. **Current Pharmaceutical Design**, v. 10, p. 4081-4101, 2004.

CRUZ, Andressa A. de A. **Avaliação do perfil de mutações e resistência aos inibidores de transcriptase reversa e protease em variantes HIV presentes em pacientes coinfetados pelo VHC**. 2014. 89 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia médica) – Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, 2014.

CUNICO, Wilson et al. HIV – Recentes Avanços na Pesquisa de Fármacos. **Química Nova**, v. 31, n. 8, p. 2111-2117, 2008.

DE, Prithwiraj et al. Design, Synthesis, and Biological Evaluation of New Cinnamic Derivatives as Antituberculosis Agents. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 54, n. 5, p. 1449-146, 2011.

DIKUSAR, Evgenij A. KOZLOV, Nikolay G. Esters Derived from Vanillin and Vanillal and Aromatic and Functionalized Aliphatic Carboxylic Acids. **Russian Journal of Organic Chemistry**, v. 41, n. 7, p. 992-996, 2005.

EKMEKCIOGLU, Cem et al. Cinnamic acid inhibits proliferation and modulates brush border membrane enzyme activities in Caco-2 cells. **Cancer Letters**, v. 128, n. 2, p. 137-144, 1998.

ERTL, Peter et al. Fast Calculation of Molecular Polar Surface Area as a Sum of Fragment-Based Contributions and Its Application to the Prediction of Drug Transport Properties. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 43, n. 20, p. 3714-3717, 2000.

ESNOUF, Robert et al. Mechanism of inhibitor of HIV-1 reverse transcriptase by non-nucleoside inhibitors. **Nature Structural Biology**, v. 2, n. 4, p. 303-308, 1994.

FREEMAN, George A. et al. Design of non-nucleoside inhibitors of HIV-1 reverse transcriptase with improved drug resistance properties. 2. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 47, n. 24, p. 5923-5936, 2004.

FERREIRA, Roberta C. S. et al. HIV: Mecanismo de Replicação, Alvos Farmacológicos e Inibição por Produtos Derivados de Plantas. **Química Nova**, v. 33, n. 8, p. 1743-1755, 2010.

FISHER, Stacy D. et al. Impact of HIV and highly active antiretroviral therapy on leukocyte adhesion molecules, arterial inflammation, dyslipidemia, and atherosclerosis. **Atherosclerosis**, v. 185, p. 1-11, 2006.

FREITAS, Renato F. Estudo computacional da interação entre inibidores não nucleosídeos da transcriptase reversa do vírus HIV-1 com aminoácidos do sítio inibitório. 2006. 184 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Departamento de Química, Universidade de São Paulo, 2006.

FU, Jie et al. Synthesis, structure and structure–activity relationship analysis of caffeic acid amides as potential antimicrobials. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, p. 2638-2643, 2010.

GASPAR, Alexandra et al. New insights into the antioxidant activity of hydroxycinnamic acids: Synthesis and physicochemical characterization of novel halogenated derivatives. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 44, p. 2092-2099, 2009.

GLASER, Jan et al. Anti-Schistosomal Activity of Cinnamic Acid Esters: Eugenyl and Thymyl Cinnamate Induce Cytoplasmic Vacuoles and Death in Schistosomula of *Schistosoma mansoni*. **Molecules**, v. 20, p. 10873-10883, 2015.

GODÓI, Isabella 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.

GRAVINA, Humberto D. et al. In vitro assessment of the antiviral potential of trans-cinnamic acid, quercetin and morin against equid herpes virus 1. **Research in Veterinary Science**, v. 91, n. 3, p. 158-162, 2011.

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

GUZMAN, J. D. Natural Cinnamic Acids, Synthetic Derivatives and Hybrids with Antimicrobial Activity. **Molecules**, v. 19, p. 19292-19349, 2014.

HEDVATI, Lilach et al. Cinnamic acid derived oxazolinium ions as novel cytotoxic agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 37, p. 607-616, 2002.

HIMMEL, Daniel M. et al. Structure of a Dihydroxycoumarin Active-Site Inhibitor in Complex with the RNase H Domain of HIV-1 Reverse Transcriptase and Structure–Activity Analysis of Inhibitor Analogs. **Journal of Molecular Biology**, v. 426, n. 14, p. 2617-2631, 2014.

HIRAO, Nenokichi; YABUUCHI, Takahiro. Preparation of esters from free acids and borates of alcohol or phenol. II. **Yakugaku Zasshi**, v.74, p. 1073-1075, 1954.

HOPKINS, Andrew L. et al. Design of Non-Nucleoside Inhibitors of HIV-1 Reverse Transcriptase with Improved Drug Resistance Properties. 1. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 47, n. 24, p. 5912-5922, 2004.

HSU, Kai-Cheng et al. iGEMDOCK: a graphical environment of enhancing GEMDOCK using pharmacological interactions and post-screening analysis. **BMC Bioinformatics**, v. 12 (sup. 1), p. 1-11, 2011.

IAMARINO, Atila. **Análise e Caracterização Molecular, Estrutural e Populacional de Proteases de HIV-1 do Estado de São Paulo**. 2012. 193 f. Tese (Doutorado em Microbiologia) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Pulo, 2012.

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.

JHAM, Gulab N. et al. Identification of the Major Fungitoxic Component of Cinnamon Bark Oil. **Fitopatologia Brasileira**, v. 30, n. 4, p. 404-408, 2005.

KALDOR, Stephen W. Viracept (Nelfinavir Mesylate, AG1343): A Potent, Orally Bioavailable Inhibitor of HIV-1 Protease. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 40, n. 24, p. 3979-3985, 1997.

KLARMANN, George J. et al. Template-directed pausing of DNA synthesis by HIV-1 reverse transcriptase during polymerization of HIV-1 sequence in vitro. **The Journal of Biologic Chemistry**, v. 268, n. 13, p. 9793-9802, 1993.

KROHN, Antonin et al. Novel binding mode of highly potent HIV-proteinase inhibitors incorporating the (R)-hydroxyethylamine isostere. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 34, n. 11, p. 3340-3342, 1991.

KUMBHAR, Pramod P et al. Synthesis of thymyl ethers and esters using polymer-supported thymol anion. **Organic Preparations and Procedures International: The New Journal for Organic Synthesis**, v. 32, n. 6, p. 600-603, 2000.

LAPEYRE, Caroline et al. Design, Synthesis, and Evaluation of Pharmacological Properties of Cinnamic Derivatives as Antiatherogenic Agents. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 48, n. 26, p. 8115-8124, 2005.

LEE, Seung Uk et al. Caffeoylglycolic and caffeoylamino acid derivatives, halfmers of L-chicoric acid, as new HIV-1 integrase inhibitors. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 42, p. 1309-1315, 2007.

LEHNINGER, Albert et al. **Princípios de bioquímica**, 3a ed. Sarvier: São Paulo, 2003.

LIMA, Lídia M. Química Medicinal Moderna: Desafios e Contribuição Brasileira. **Química Nova**, v. 30, n. 6, p. 1456-1468, 2007.

LIPINSKI, Christopher 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, Lei et al. Cinnamic acid: A natural product with potential use in cancer intervention. **International Journal of Cancer**, v. 62, n. 3, p. 345-350, 1995.

LONE, Rafiq et al. Role of Cinnamate and Cinnamate Derivatives in Pharmacology. **Global Journal of Pharmacology**, v. 8, n. 3, p. 328-335, 2014.

MENEZES, Jose C. J. M. D. S. et al. Synthesis and antioxidant activity of long chain alkyl hydroxycinnamates. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 46, p. 773-777, 2011.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Boletim Epidemiológico - AIDS e DST**. Brasília, 2014. 84 p.

MOJAVER, Aida; KHEIRI, Hossein. Mathematical analysis of a class of HIV infection models of CD4<sup>+</sup> T-cells with combined antiretroviral therapy. **Applied Mathematics and Computation**, v. 259, p. 258-270, may. 2015.

MOTA, Tiago 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

MOTWANI, Hitesh V. et al. Aspartic protease inhibitors containing tertiary alcohol transition-state mimics. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 90, p. 462-490, 2015.

MUNSHI, S. et al. Rapid X-ray diffraction analysis of HIV-1 protease-inhibitor complexes: inhibitor exchange in single crystals of the bound enzyme. **Acta Crystallogr D Biol Crystallogr**, v. 54, n. 5, p. 1053-1060, 1998.

MURAKAMI, Akira; et al. Structure–activity relationships of (1'S)-1'-Acetoxychavicol acetate, a major constituent of a southeast Asian condiment plant *Languas galangal*, on the inhibition of tumor-promoter-induced Epstein–Barr virus activation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, p. 1518-1523, 2000.

NARASIMHAN, Balasubramanian et al. Esters, amides and substituted derivatives of cinnamic acid: synthesis, antimicrobial activity and QSAR investigations. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 39, p. 827-834, 2004.

NIERO, Evandro L. O. **Efeito do ácido cinâmico sobre melanócitos e células derivadas de melanoma humanos: avaliação do seu potencial antitumoral e de proteção contra danos celulares causados por radiação ultravioleta**. 2010. 38 f. Tese (Doutorado em Biologia Celular) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, 2010.

PARK, Yong K. et al. Determinação das Atividades Citolíticas e Anti-Hiv dos Extratos Etanólicos de Própolis Coletadas em Diferentes Regiões do Brasil. **Mensagem Doce**, n. 56, 2000. Disponível em: <<http://www.apacame.org.br/mensagemdoce/56/artigo.htm>>. Acesso em: 28 abr. 2015.

PASSO, Joel A. **Síntese e caracterização de novos polímeros líquido-cristalinos de cadeia lateral derivados do heterociclo 2-isoxazolinico 3,5-disubstituído**. 2012. 215 f. Tese (Doutorado em Química) – Programa de Pós-Graduação em Química, Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2012.

PELTER, Andrew et al. The carbon-13 nuclear magnetic resonance spectra of flavonoids and related compounds. **Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1**, v. 23, p. 2475-2483, 1976.

PROVINCHER, Véronic M. I. et al. Antiviral Drugs that Target Cellular Proteins May Play Major Roles in Combating HIV Resistance. **Current Pharmaceutical Design**, v. 10, p. 4081-4101, 2004.

QIAN, Yong et al. Synthesis, molecular modeling, and biological evaluation of cinnamic acid metronidazole ester derivatives as novel anticancer agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 18, p. 4991-4996, 2010.

RODRIGUES, Ricardo P. et al. Estratégias de Triagem Virtual no Planejamento de Fármacos. **Revista Virtual Química**, v. 4, n. 6, p. 739-776, 2012.

SEELMEIER, Sigrid et al. Human immunodeficiency virus has an aspartic-type protease that can be inhibited by pepstatin A. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 85, n.18, p. 6612-6616, 1988.

SERKEDJIEVA, Julia et al. Anti-influenza virus effect of some propolis constituents and their analogues (esters of substituted cinnamic acids). **Journal of Natural Products**, v. 55, n. 3, p. 294-302, 1992.

SHARMA, P. Cinnamic acid derivatives: A new chapter of various pharmacological activities. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v. 3, n. 2, p. 403-423, 2011.

SHEN, Lingling et al. Steered Molecular Dynamics Simulation on the Binding of NNRTI to HIV-1 RT. **Biophysical Journal**, v. 84, n. 6, p. 3547–3563, 2003.

SHIN, Joon S. et al. Properties and antiallopecic effect of eugenol-cinnamic acid derivative. **Soul Taehakkyo Yakhak Nonmunjip**, v. 21, p. 1-11, 1996.

SILVA, Rosilene A. et al. Características físico-químicas e atividade antimicrobiana de extratos de própolis da Paraíba, Brasil. **Ciência Rural**, v. 36, n. 6, p. 1842-1848, 2006.

SILVEIRA, Alexander A. da. **Mapeamento Genético do HIV-1 e Análise de Resistências Associadas aos Antirretrovirais em Pacientes do Centro - Oeste Brasileiro**. 2011. 99 f. Tese (Doutorado em Medicina Tropical e Saúde Pública) - Progra-

ma de Pós-Graduação em Medicina Tropical, Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Universidade Federal de Goiás, 2011.

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

STEGLICH, Wolfgang; NEISES, Bernhard. Simple Method for the Esterification of Carboxylic Acids. **Angewandte Chemie**, v. 17, n. 7, p. 522-524, 1978.

STEGLICH, Wolfgang; Neises, Bernhard. Simple Method for the Esterification of Carboxylic Acids. **Angewandte Chemie**, v. 17, n. 7, p. 522-524, 1978.

SUZUKI, Youichi; CRAIGIE, Robert. The road to chromatin – nuclear entry of retroviruses. **Nature Reviews Microbiology**, v. 4, n. 3, p. 187-196, 2007.

TAWATA, Shinkichi et al. Synthesis and Antifungal Activity of Cinnamic Acid Esters. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 60, n. 5, p. 909-910, 1996.

TORTORA, Gerard J.; FUNKE, Berdell R.; CASE, Christine, L. **Microbiologia**. 10. ed. Porto Alegre: Artmed, 2012.

UM, Ik-Hwan et al. Aminolysis of Y-Substituted Phenyl X-Substituted Cinnamates and Benzoates: Effect of Modification of the Nonleaving Group from Benzoyl to Cinnamoyl. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 72, n. 13, p. 4816-4821, 2007

VEBER, Daniel F. et al. Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. *Journal of Medicinal Chemistry*, v. 45, n. 12, p. 2615-2623, 2002

VICTORINO, Fausto R. et al. Antibacterial activity of propolis-based toothpastes for endodontic treatment. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 45, n.4, p. 795-800, 2009.

WANG, Li-Jun et al. Design, synthesis, and molecular hybrids of caudatin and cinnamic acids as novel anti-hepatitis B virus agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 54, p. 352-365, 2012.

WARRILOW, David; TACHEDJIAN, Gilda; HARRICH, David. Maturation of HIV reverse transcription complex: putting the jigsaw together. **Reviews in Medical Virology**, v. 19, n. 6, p. 324-337, 2009.

ZHUANG, Min et al. Procyanidins and butanol extract of Cinnamomi Cortex inhibit SARS-CoV infection. **Antiviral Research**, v. 82, p. 73-81, 2009.

## **ANEXO I**

**Imagens complementares do estudo de ancoragem molecular com as enzimas  
HIV-1 Transcriptase Reversa**

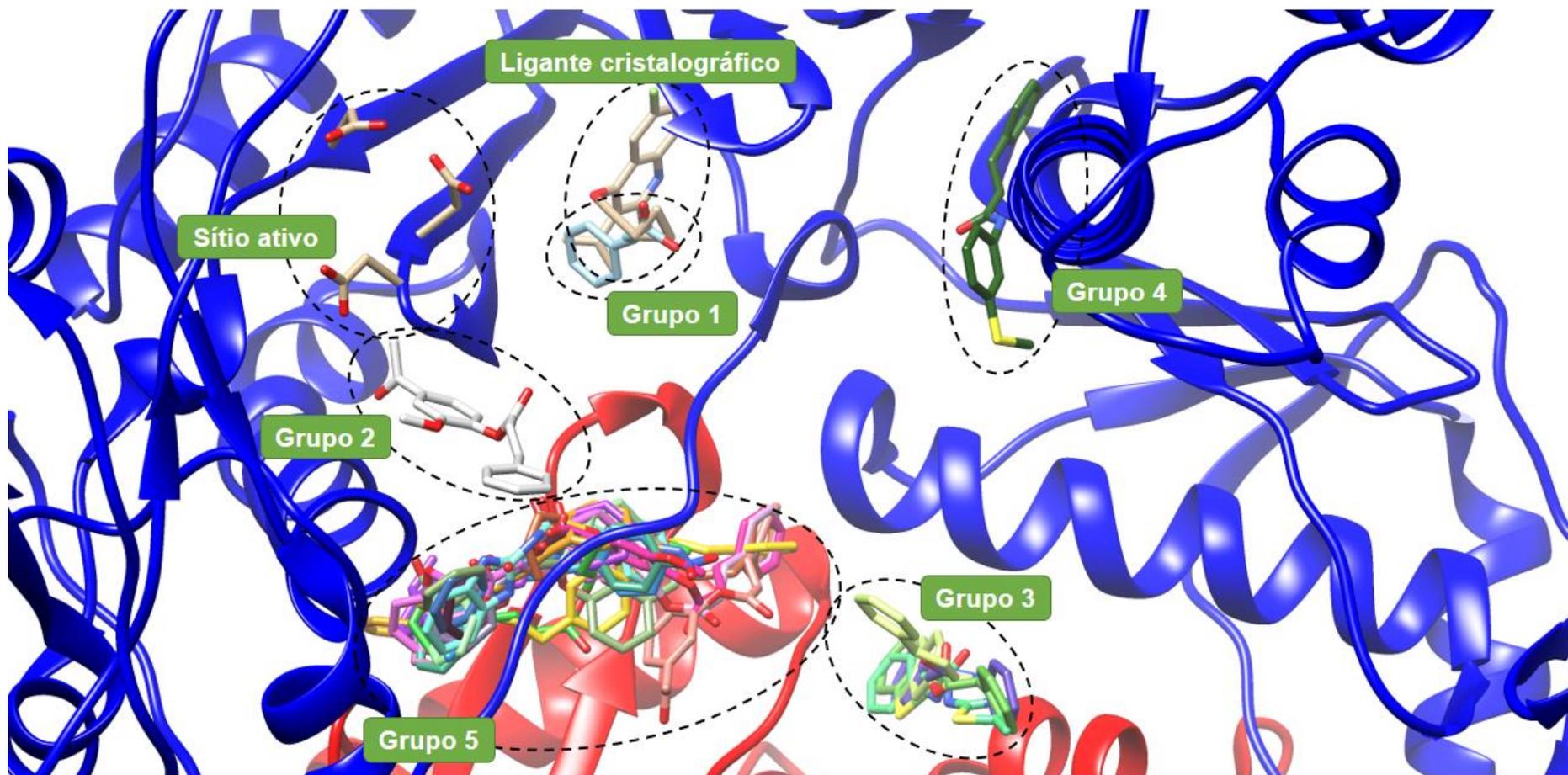


Figura 20 – Representação das interações dos derivados avaliados com a enzima TR PDB 1TKX obtidas no estudo de ancoragem molecular realizado na ferramenta iGEMDOCK.  
Fonte: Autoria Própria.

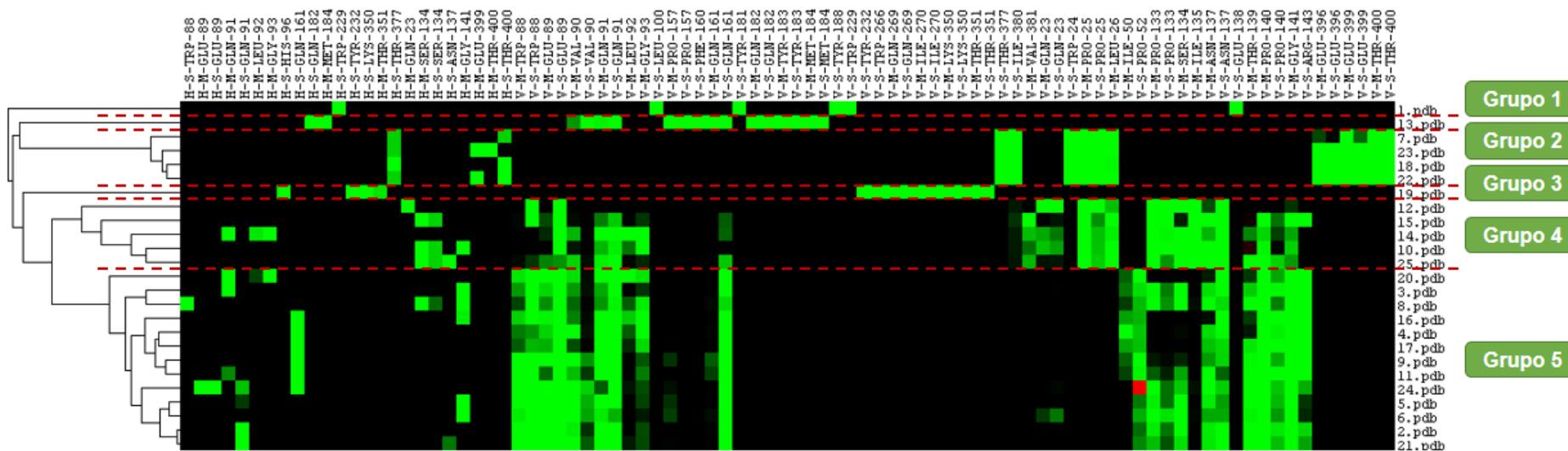


Figura 21 – Representação das interações dos derivados avaliados com a enzima TR PDB 1TKX obtidas no estudo de ancoragem molecular realizado na ferramenta iGEMDOCK em agrupamento hierárquico do perfil de interação dos ligantes.  
Fonte: Autoria Própria.

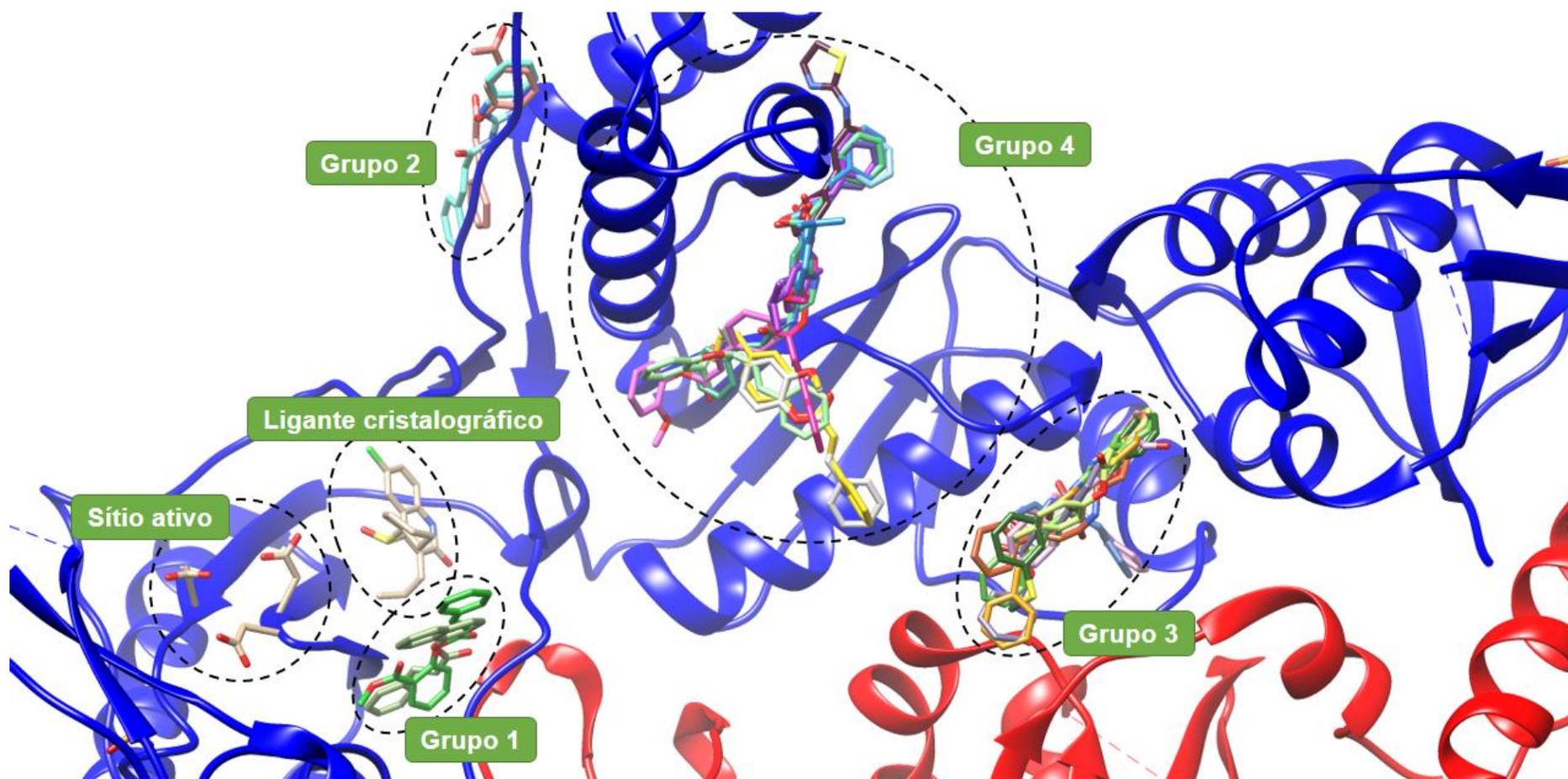


Figura 22 – Representação das interações dos derivados avaliados com a enzima TR PDB 1TL1 obtidas no estudo de ancoragem molecular realizado na ferramenta iGEMDOCK.  
Fonte: Autoria Própria.

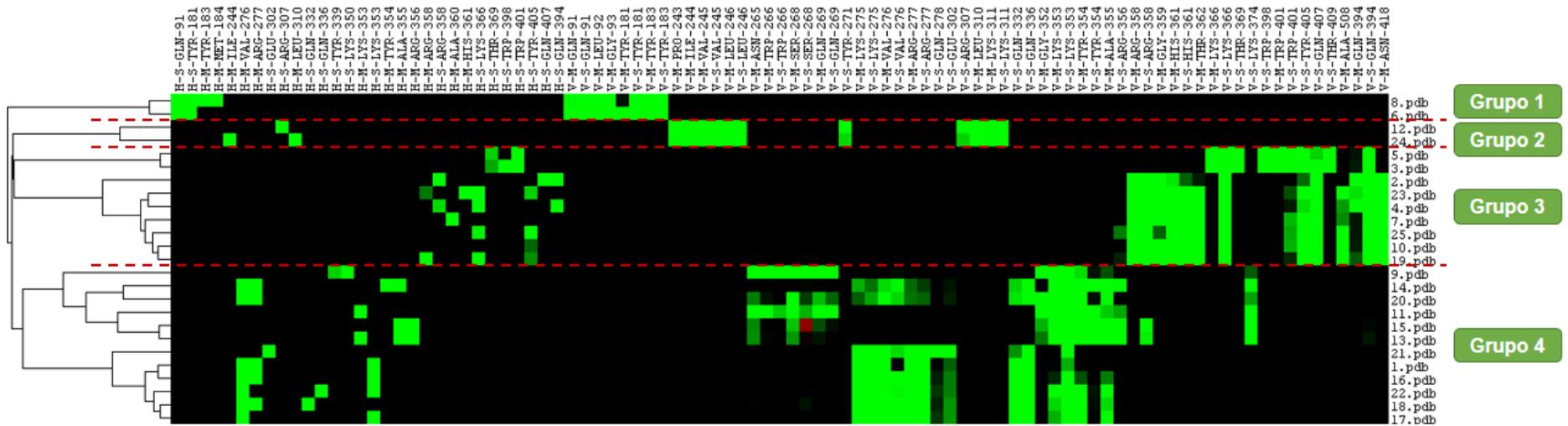


Figura 23 – Representação das interações dos derivados avaliados com a enzima TR PDB 1TL1 obtidas no estudo de ancoragem molecular realizado na ferramenta iGEMDOCK em agrupamento hierárquico do perfil de interação dos ligantes.

Fonte: Autoria Própria.

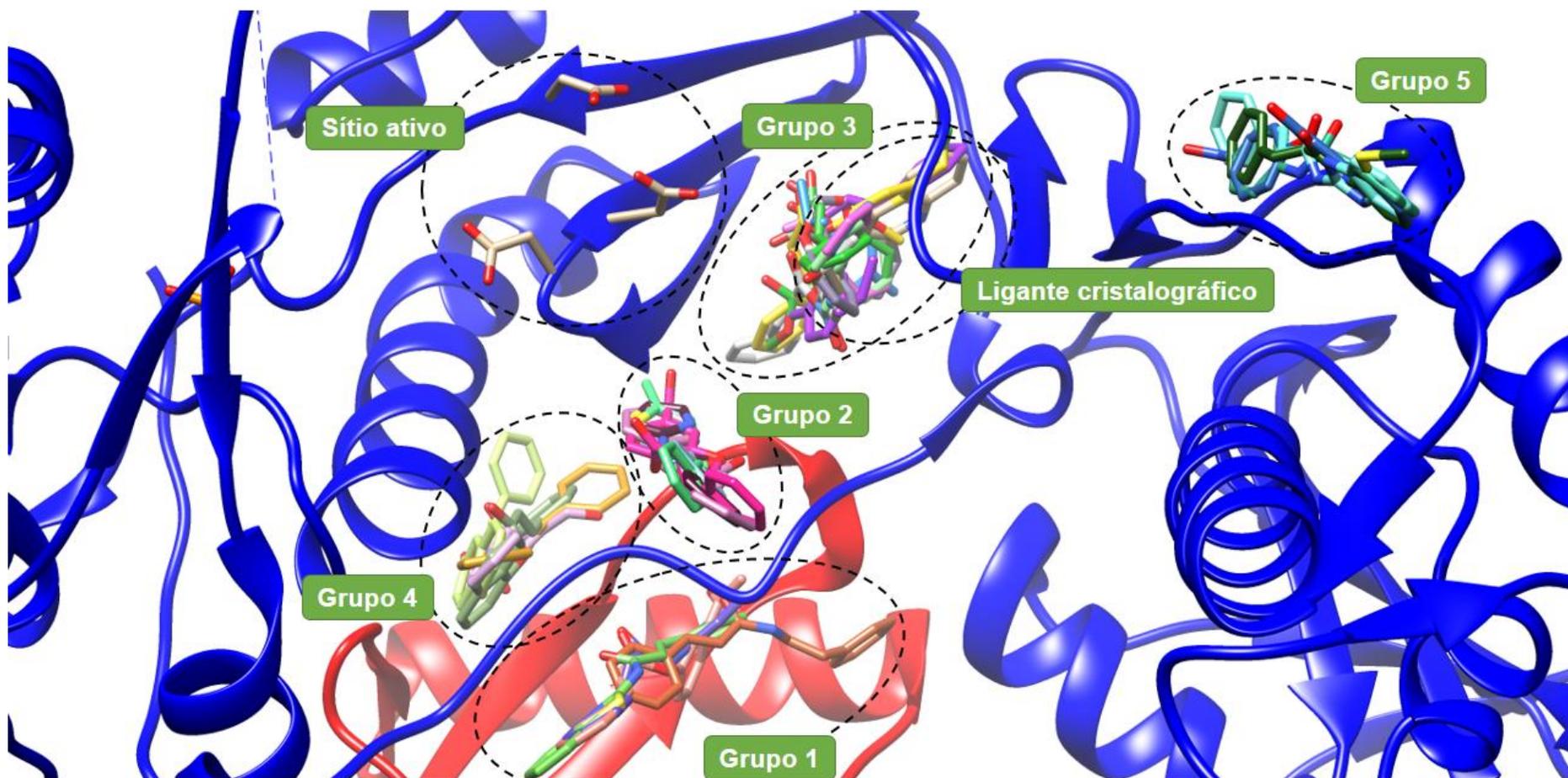


Figura 24 – Representação das interações dos derivados avaliados com a enzima TR PDB 1TL3 obtidas no estudo de ancoragem molecular realizado na ferramenta iGEMDOCK.  
Fonte: Autoria Própria.

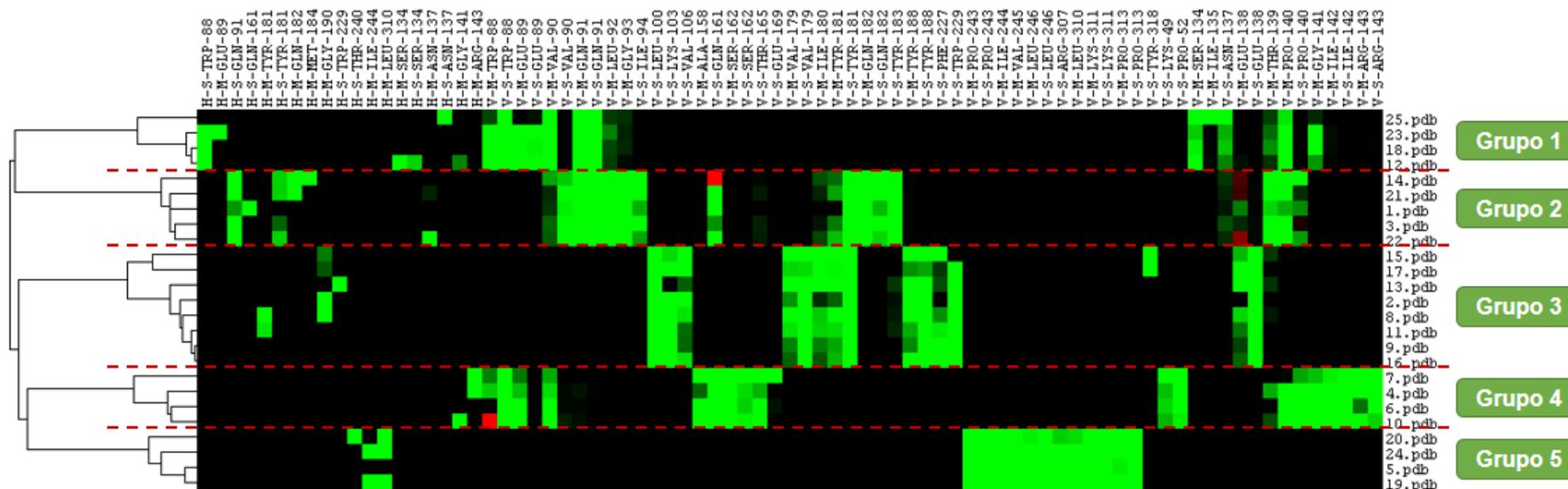
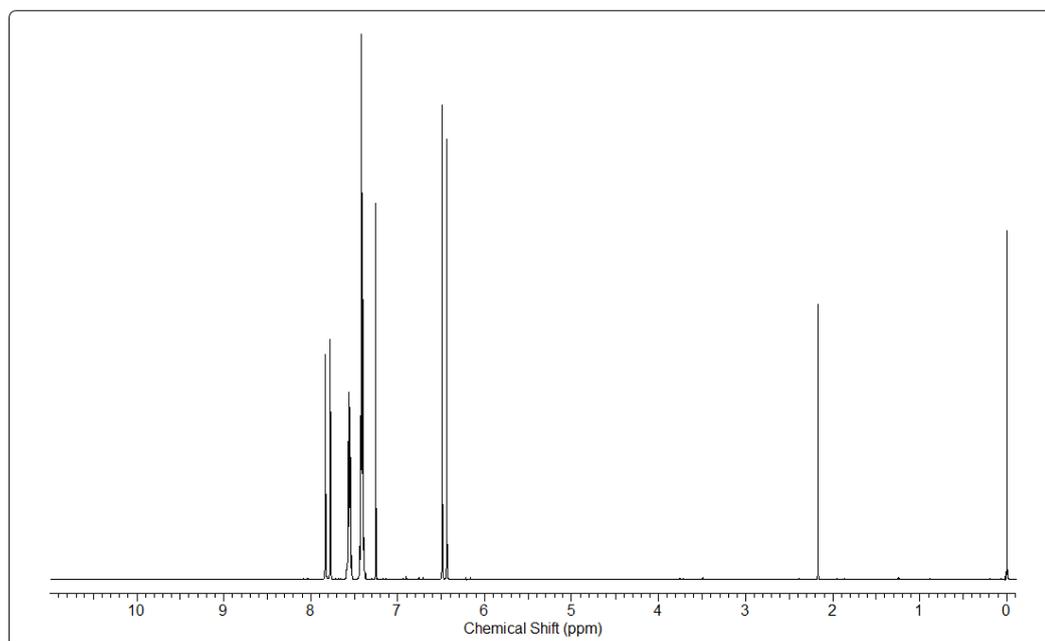


Figura 25 – Representação das interações dos derivados avaliados com a enzima TR PDB 1TL3 obtidas no estudo de ancoragem molecular realizado na ferramenta iGEMDOCK em agrupamento hierárquico do perfil de interação dos ligantes.  
 Fonte: Autoria Própria.

## **ANEXO II**

**Espectros de RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e *DEPT* dos compostos avaliados**



Deslocamentos Químicos de $^1\text{H}$ do Ácido Cinâmico	
	6,47 ppm (d; $J = 16,0$ Hz; 1 H)
	7,40 ppm (m; 2 H)
	7,42 ppm (m; 1 H)
	7,56 ppm (m, 2 H)
	7,81 ppm (d; $J = 16,0$ Hz; 1 H)

Figura 26 – Espectro e deslocamentos químicos de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300,06 MHz) do ácido cinâmico (1).

Fonte: Autoria Própria.

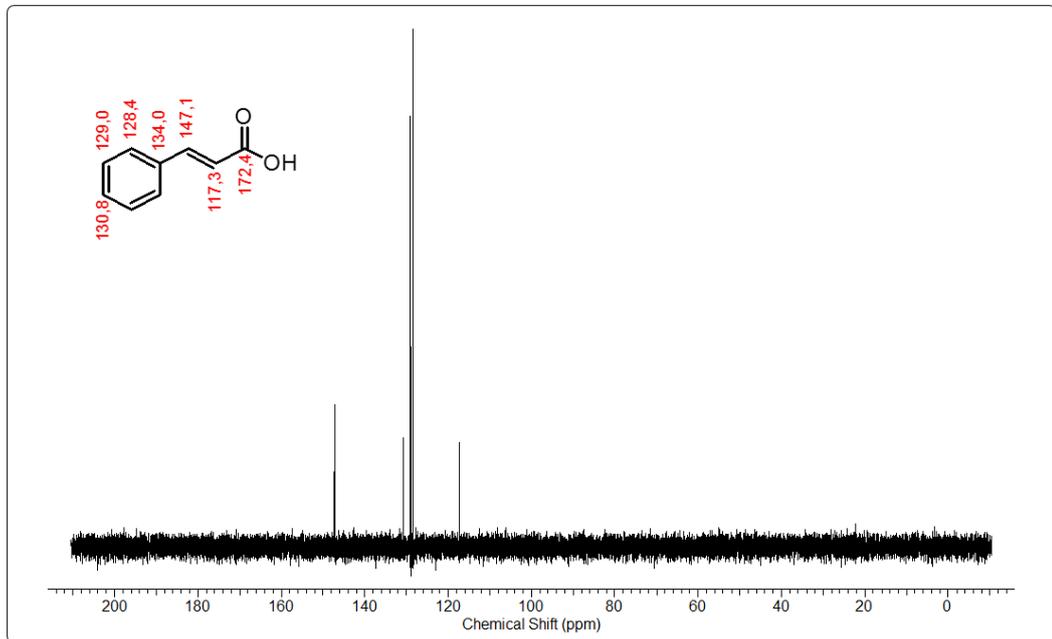
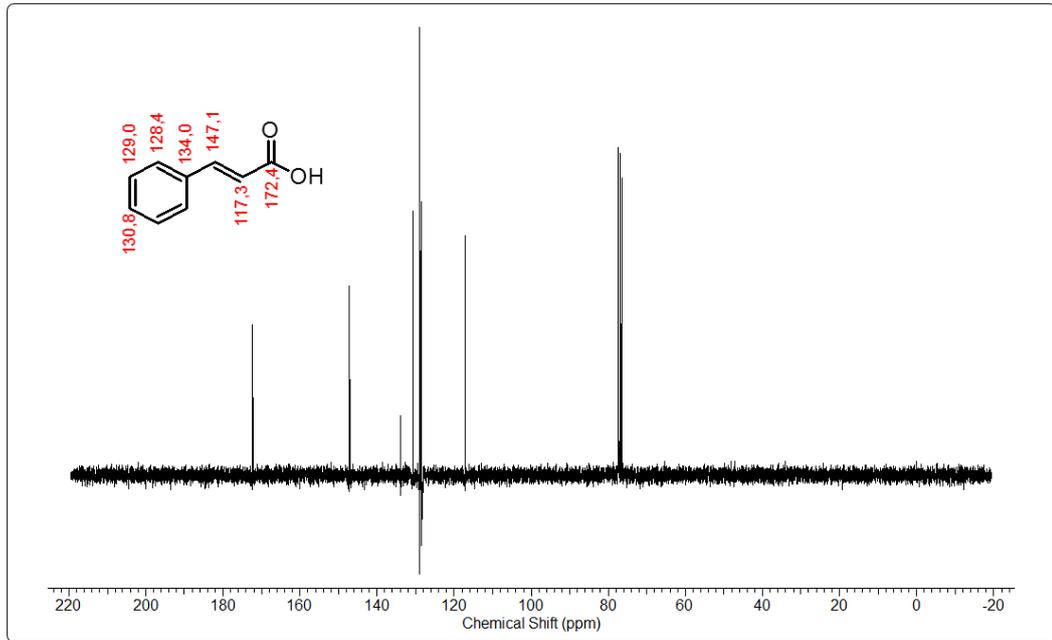
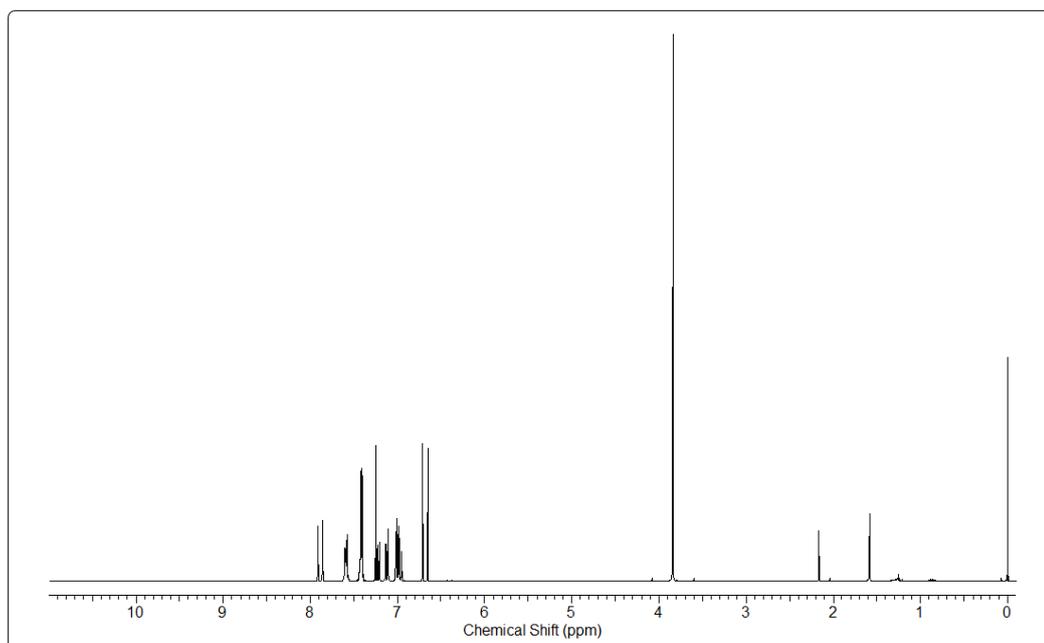


Figura 27 – Espectros e deslocamentos químicos de  $^{13}\text{C}$  e DEPT 135 ( $\text{CDCl}_3$ , 75,45 MHz) do ácido cinâmico (1).  
Fonte: Autoria Própria.



Deslocamentos de RMN de $^1\text{H}$ do Cinamato de Guaiacoila	
	3,84 ppm (s; 3 H)
	6,68 ppm (d; $J = 16,1$ Hz; 1H)
	6,98 ppm (ddd; $J = 7,9, 7,3, 1,5$ Hz; 1 H)
	7,00 ppm (dd; $J = 8,2, 1,5$ Hz; 1 H)
	7,12 ppm (ddd; $J = 7,9, 1,7, 0,4$ Hz; 1 H)
	7,23 ppm (ddd; $J = 8,2, 7,3, 1,7$ Hz; 1 H)
	7,40 ppm (m; 2 H)
	7,42 ppm (m; 1 H)
	7,56 ppm (m; 2 H)
	7,89 ppm (d; $J = 16,1$ Hz; 1H)

Figura 28 – Espectro e deslocamentos químicos de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300,06 MHz) do cinamatos de Guaiacoila (9).

Fonte: Autoria Própria.

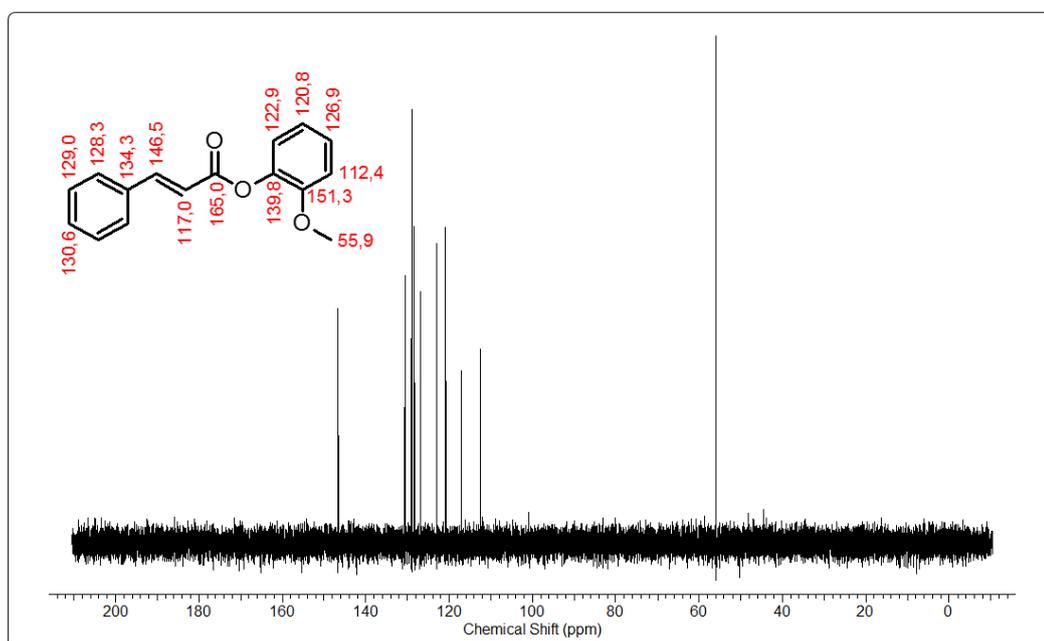
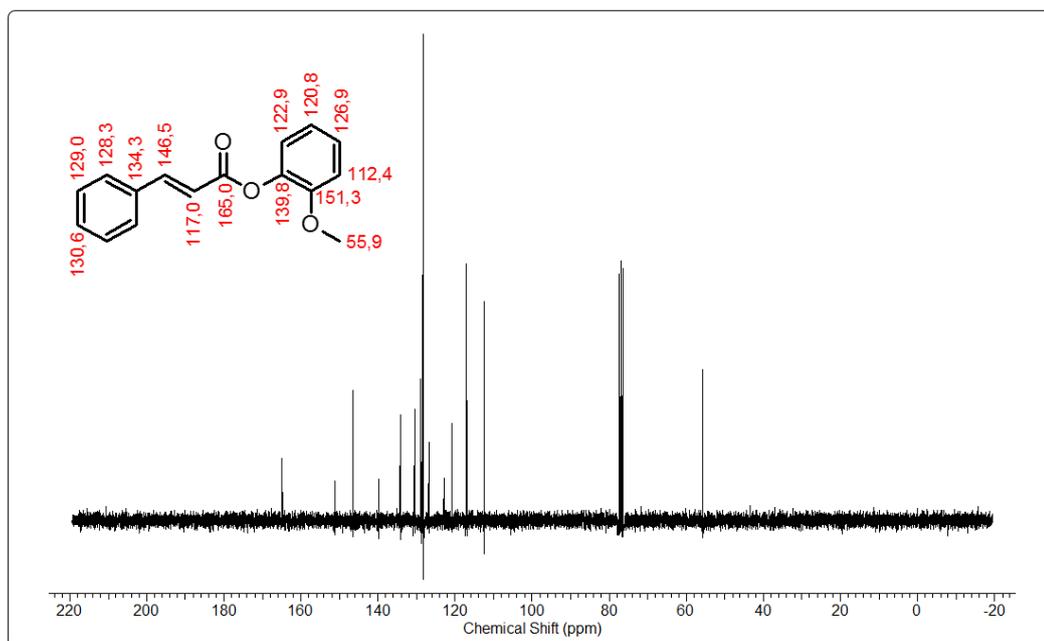
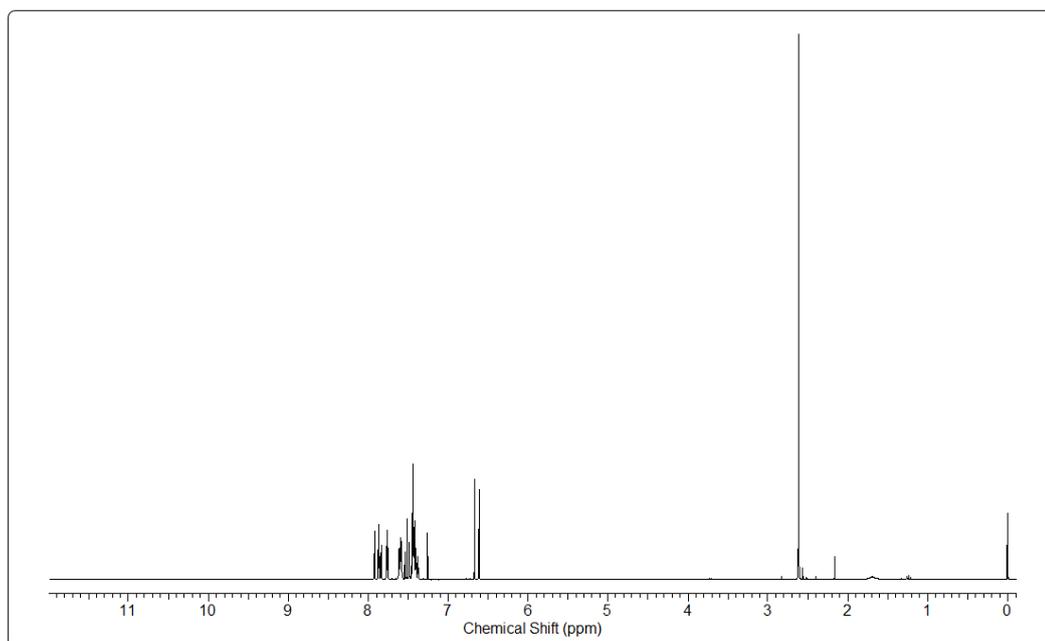


Figura 29 – Espectros e deslocamentos químicos de  $^{13}\text{C}$  e DEPT 135 ( $\text{CDCl}_3$ , 75,45 MHz) do Cinamato de guaiacola (9).  
Fonte: Autoria Própria.



Deslocamentos de RMN de $^1\text{H}$ do Cinamato de 3-acetofenonila (12)	
	2,61 ppm (s; 3 H)
	6,64 ppm (d; $J = 16,1$ Hz; 1H)
	7,40 ppm (ddd; $J = 8,1, 2,5, 1,1$ Hz; 1H)
	7,43 ppm (m; 2 H)
	7,45 ppm (m; 1 H)
	7,51 ppm (t; $J = 7,8$ ; 1 H)
	7,60 ppm (m; 2 H)
	7,76 ppm (ddd; $J = 2,5, 1,5, 0,4$ ; 1 H)
	7,85 ppm (ddd; $J = 7,8, 1,5, 1,1$ ; 1 H)
	7,90 ppm (d; $J = 16,1$ Hz; 1H)

Figura 30 – Espectro e deslocamentos químicos de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300,06 MHz) do cinamatos de 3-acetofenonila (12).

Fonte: Autoria Própria.

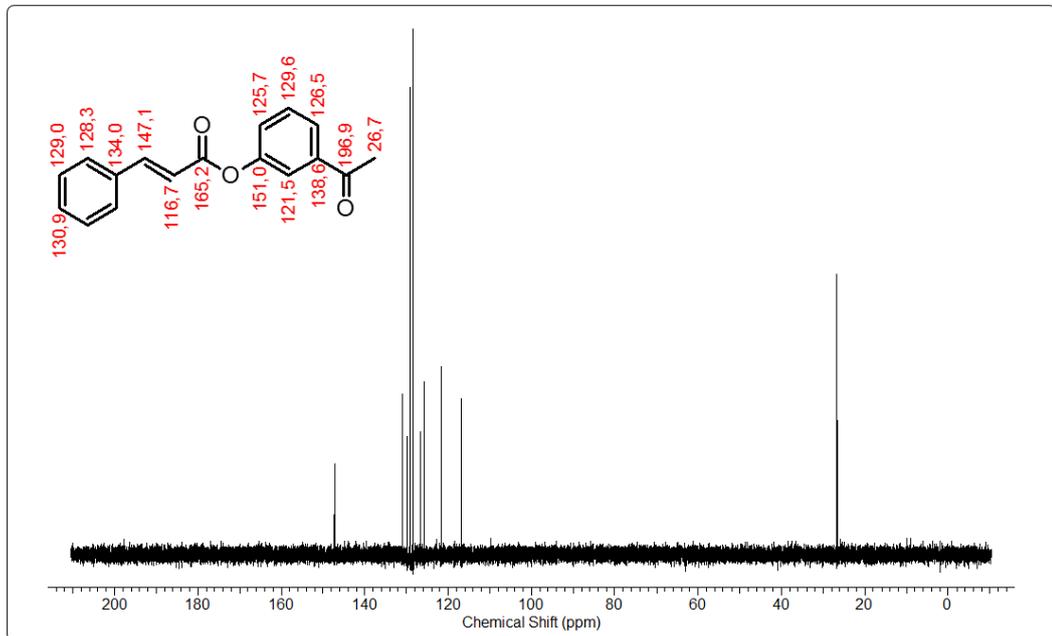
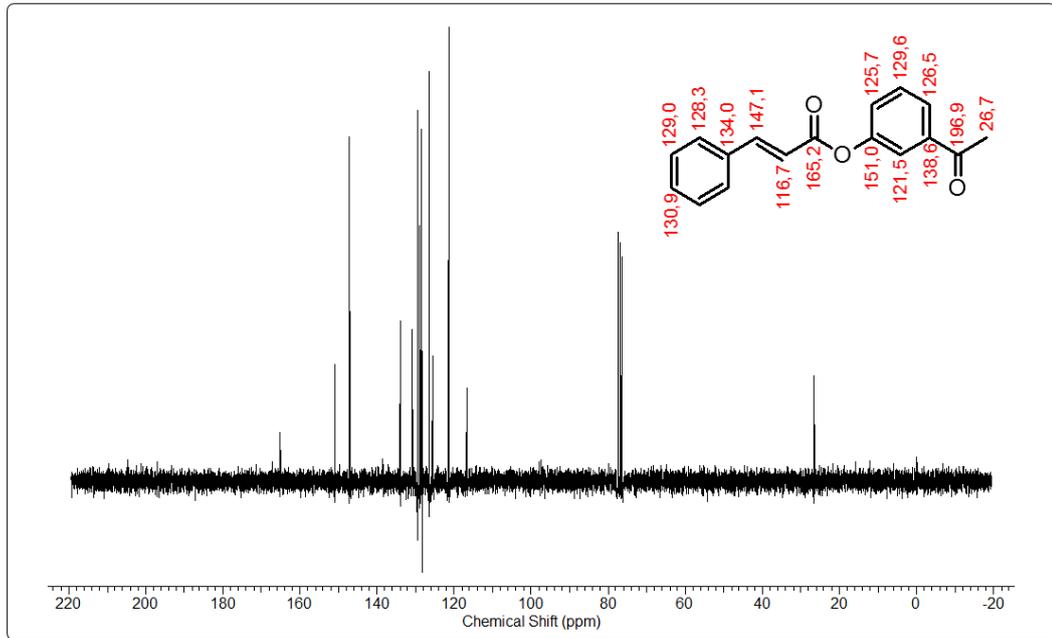
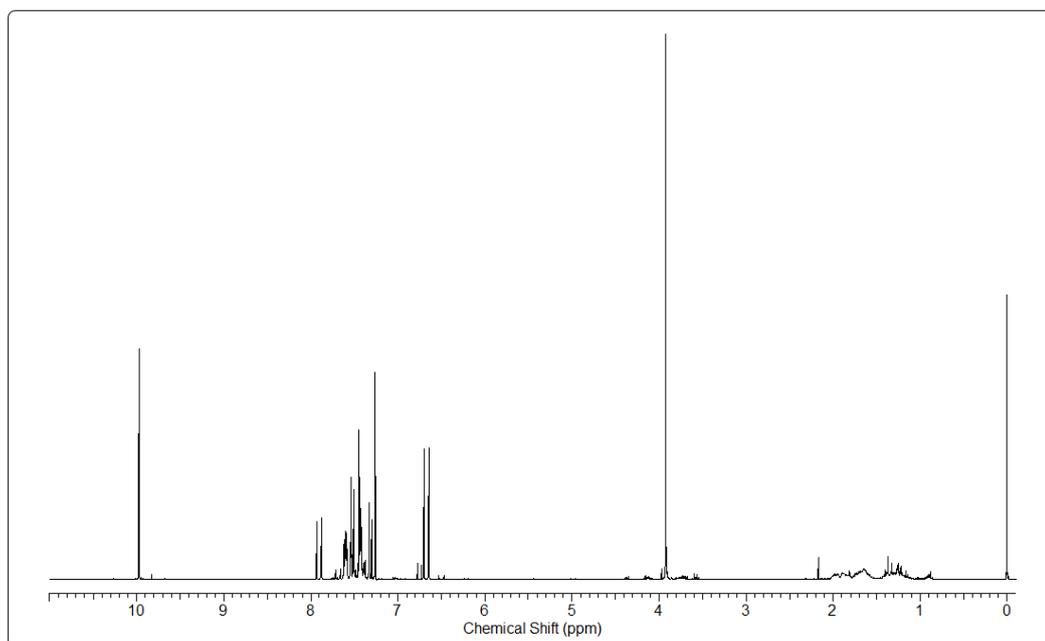


Figura 31 – Espectros e deslocamentos químicos de  $^{13}\text{C}$  e DEPT 135 ( $\text{CDCl}_3$ , 75,45 MHz) do Cinamato de 3-acetofenila (9).  
 Fonte: Autoria Própria.



Deslocamentos de RMN de $^1\text{H}$ do Cinamato de vanilinila (14)	
	3,92 ppm (s; 3 H)
	6,67 ppm (d; $J = 16,0$ Hz; 1H)
	7,31 ppm (d; $J = 7,9$ Hz; 1 H)
	7,43 ppm (m; 2 H)
	7,44 ppm (m; 1 H)
	7, 51 ppm (dd; $J = 7,9, 1,7$ Hz; 1 H)
	7,54 ppm (d; $J = 1,7$ Hz; 1 H)
	7,61 ppm (m; 2 H)
	7,90 ppm (d; $J = 15,99$ Hz; 1H)
	9,97 ppm (s; 1 H)

Figura 32 – Espectro e deslocamentos químicos de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300,06 MHz) do cinamatos de vanilinila (14).

Fonte: Autoria Própria.

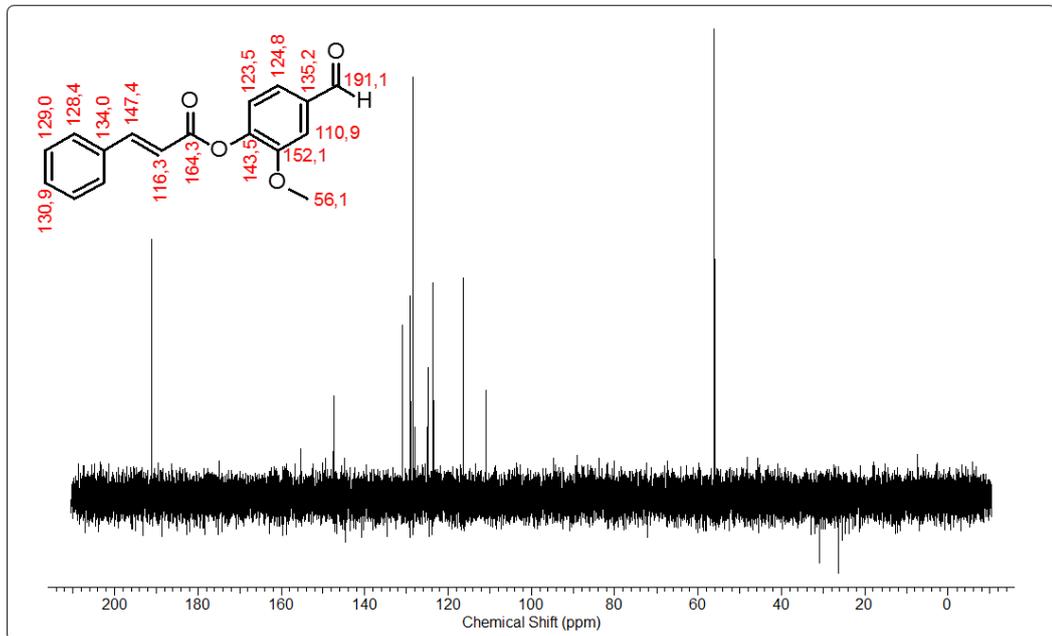
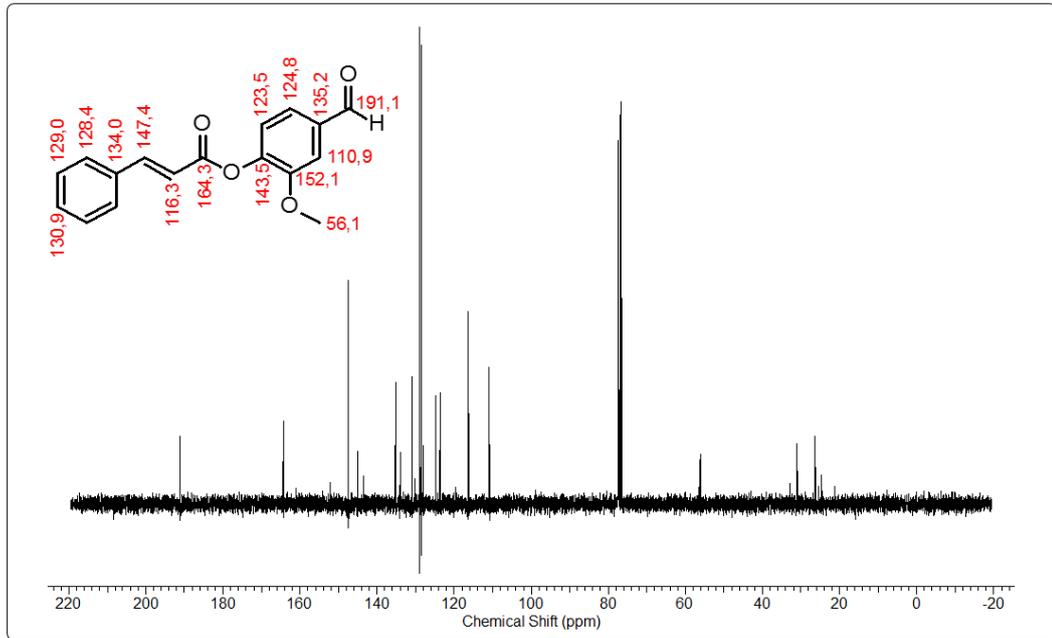
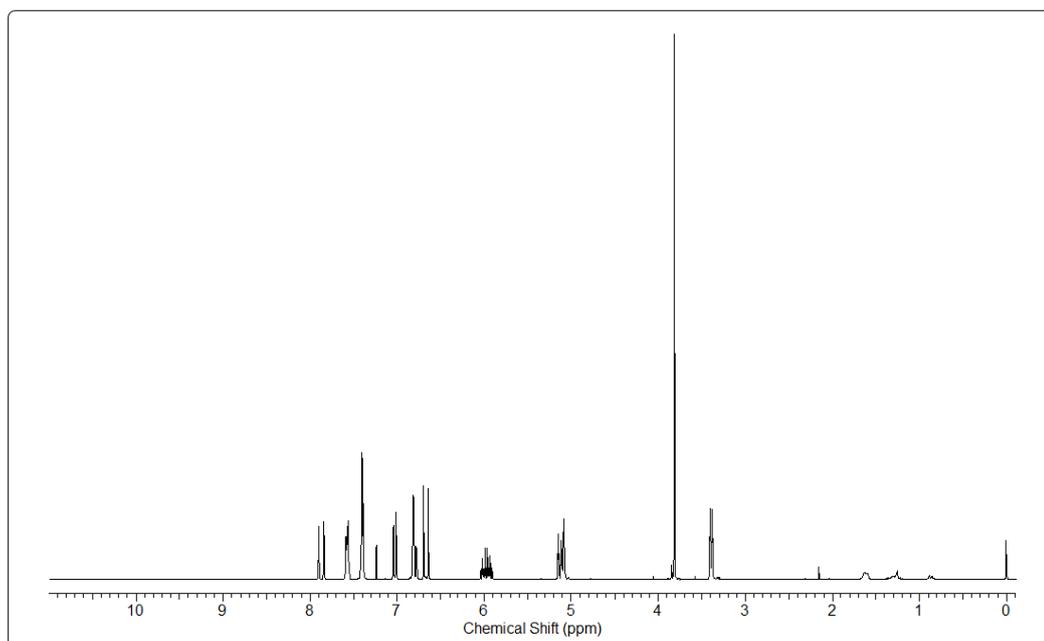


Figura 33 – Espectros e deslocamentos químicos de  $^{13}\text{C}$  e DEPT 135 ( $\text{CDCl}_3$ , 75,45 MHz) do Cinamato de vanilina (14).  
 Fonte: Autoria Própria.



Deslocamentos de RMN de $^1\text{H}$ do Cinamato de eugenila (15)	
	3,40 ppm (d; $J = 6,7$ Hz; 2 H)
	3,83 ppm (s; 3 H)
	5,07-5,12 ppm (m; 1 H)
	5,12 ppm (dq; $J = 16,8, 1,8$ Hz; 1 H)
	5,98 ppm (ddt; $J = 16,8, 10,2, 6,7$ Hz; 1 H)
	6,67 ppm (d; $J = 16,1$ Hz; 1 H)
	6,80 ppm (dd; $J = 7,9, 2,0$ Hz; 1 H)
	6,82 ppm (m; 1 H)
	7,03 ppm (d; $J = 7,9$ Hz; 1 H)
	7,43 ppm (m; 3 H)
	7,45 ppm (m; 1 H)
	7,62 ppm (m; 2 H)
	7,87 ppm (d; $J = 16,1$ Hz; 1 H)

Figura 34 – Espectro e deslocamentos químicos de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300,06 MHz) do cinamatos de eugenila (15).

Fonte: Autoria Própria.

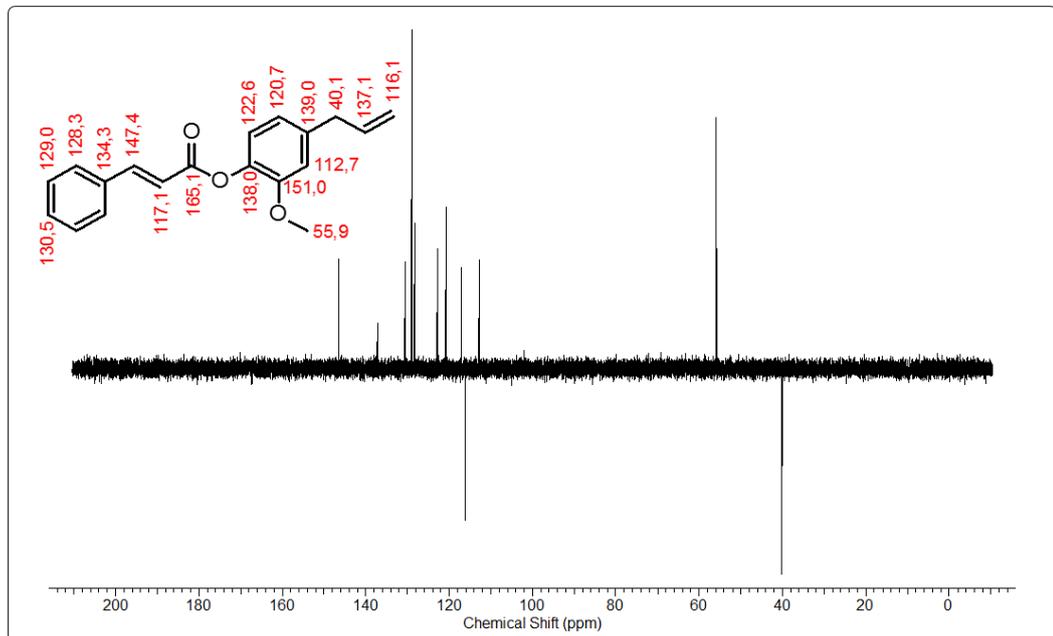
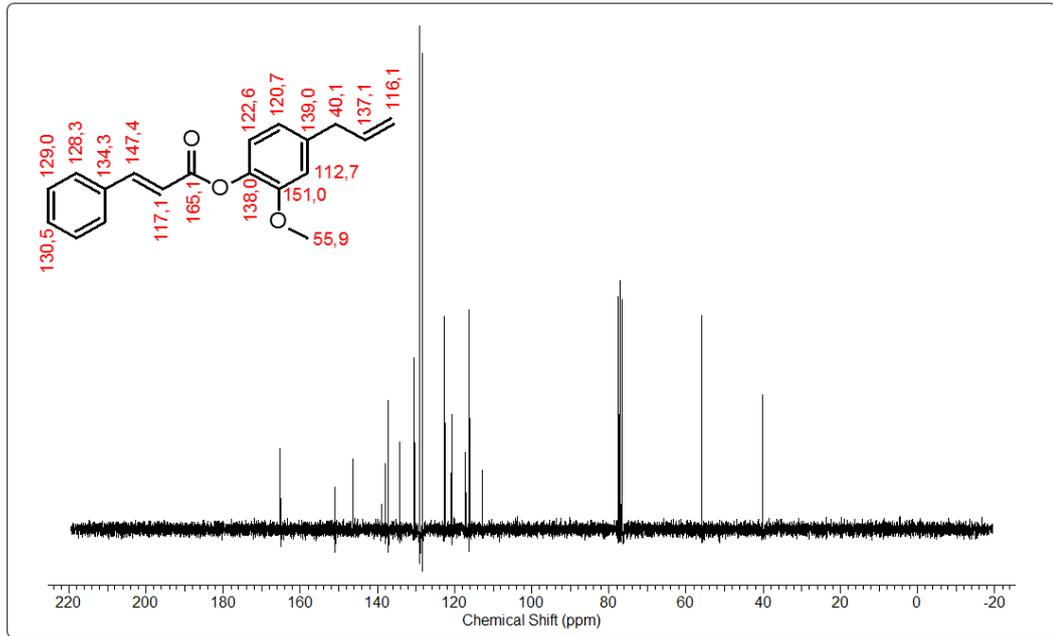


Figura 35 – Espectros e deslocamentos químicos de  $^{13}\text{C}$  e DEPT 135 ( $\text{CDCl}_3$ , 75,45 MHz) do Cinnamato de eugenila (15).  
Fonte: Autoria Própria.



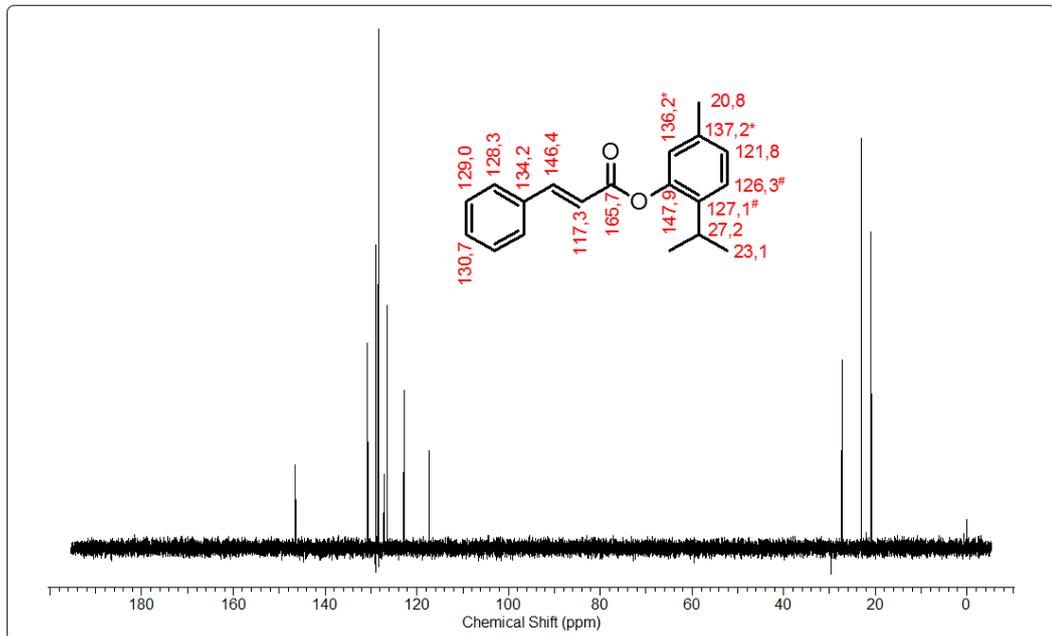
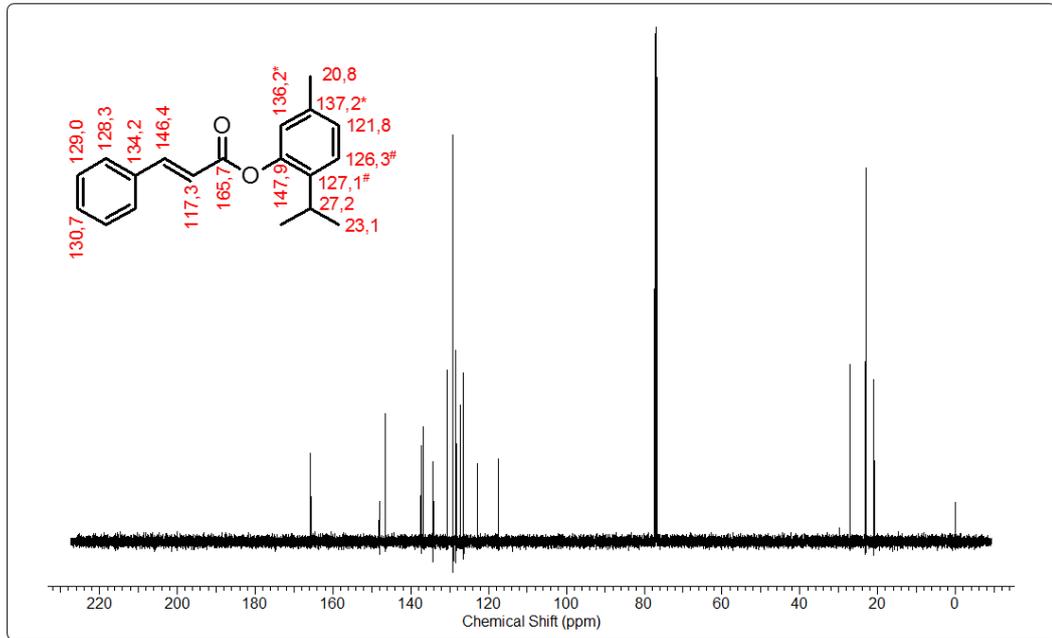


Figura 37 – Espectros e deslocamentos químicos de  $^{13}\text{C}$  e DEPT 135 ( $\text{CDCl}_3$ , 75,45 MHz) do Cinnamato de timila (16).  
 Fonte: Autoria Própria.