



UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS I
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA

ANALARA CORDEIRO DE MACÊDO

**PLANEJAMENTO IN SILICO DE DERIVADOS FENILMETANIMINO-
ACRIDÍNICOS E 9-ESTIRIL-ACRIDÍNICOS SUBSTITUÍDOS COM POTENCIAL
AÇÃO ANTITUMORAL EM RECEPTORES ESTROGÊNICOS**

CAMPINA GRANDE

2022

ANALARA CORDEIRO DE MACÊDO

**PLANEJAMENTO IN SILICO DE DERIVADOS FENILMETANIMINO-
ACRIDÍNICOS E 9-ESTIRIL-ACRIDÍNICOS SUBSTITUÍDOS COM POTENCIAL
AÇÃO ANTITUMORAL EM RECEPTORES ESTROGÊNICOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao departamento de Farmácia da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de bacharel em Farmácia.

Área de concentração: Farmácia.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Olimpio de Moura

CAMPINA GRANDE

2022

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

M141p Macedo, Analara Cordeiro de.

Planejamento *in silico* de derivados fenilmetanimino-acridínicos e 9-estiril-acridínicos substituídos com potencial ação antitumoral em receptores de estrogênicos [manuscrito] / Analara Cordeiro de Macedo. - 2022.

78 p. : il. colorido.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2022.

"Orientação : Prof. Dr. Ricardo Olímpio de Moura ,
Coordenação do Curso de Farmácia - CCBS."

1. Câncer de mama . 2. Câncer de próstata. 3. Receptores de estrogênio. 4. Planejamento molecular. 5. Perfil farmacocinético. I. Título

21. ed. CDD 616.994

ANALARA CORDEIRO DE MACÊDO

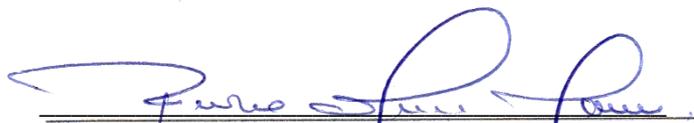
PLANEJAMENTO IN SILICO DE DERIVADOS FENILMETANIMINO-ACRIDÍNICOS E
9-ESTIRIL-ACRIDÍNICOS SUBSTITUÍDOS COM POTENCIAL AÇÃO ANTITUMORAL
EM RECEPTORES ESTROGÊNICOS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao departamento de Farmácia da Universidade
Estadual da Paraíba, como requisito parcial à
obtenção do título de bacharel em Farmácia.

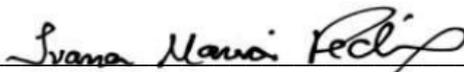
Área de concentração: Farmácia.

Aprovado em: 22/11/2022.

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Ricardo Olimpio de Moura (Orientador)
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Prof. Dra. Ivana Maria Fechine
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Me. Sonaly Lima Albino
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

À minha mãe, que é a prova viva de até onde a
educação pode nos levar, e que fez tudo em
seu poder para que eu chegasse aonde cheguei,
DEDICO.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, que me guiou e fortaleceu até aqui.

À minha mãe, Goreth, por seu apoio incondicional, e o amor que demonstrou por mim toda a vida. Obrigado por ter me incentivado a ser o meu melhor.

À minha família, que se orgulhou das minhas conquistas, e demonstrou apoio em minhas derrotas.

À minha madrinha Diana, que sempre teve mais confiança em mim do que eu.

Aos meus amigos mais antigos, Camila, Karen e Victor, que conhecem todas as minhas versões, e ficaram do meu lado mesmo assim.

À Ronald, que me recebeu, e me ajudou a solucionar os problemas desde o 1º dia de curso.

À Allan, João Victor e Sara, pessoas cujos laços de amizade só se fortaleceram diante das circunstâncias que nos fariam mais distantes.

Aos amigos que estiveram comigo durante toda a minha graduação, e me motivaram, me ensinaram e me apoiaram nos momentos difíceis dessa jornada, Yasmim, Rayane, Pedro, Jessé, Esdras, Alessandra e Brenda. Espero que nossos caminhos se cruzem muitas vezes no futuro, mesmo quando nos formarmos.

À João Oshiro, que me aceitou quando eu não sabia nada sobre o mundo científico, me ensinou, e me deu oportunidades pelas quais serei sempre agradecida.

À Ricardo Olímpio, cujo apoio, confiança, orientação e ensinamentos estarão sempre marcados na minha vida acadêmica. Me considero sortuda por ter sido bem orientada.

À futura mestre, Mirelly, e ao futuro Doutor, Jamire, obrigada pela paciência e conhecimento transmitidos durante nosso tempo no laboratório, vocês foram parte essencial na grande jornada desse PIBIC.

À Misael, que se tornou um companheiro de trincheiras durante a jornada no LDSF. Obrigada por sua amizade, por sua paciência, e pelas reclamações e dicas trocadas, eu acho que dessa vez nós incentivamos o melhor um do outro. Sem você, eu provavelmente não teria terminado esse trabalho.

Aos companheiros do I-nano e do LDSF, que me ensinaram grandemente durante toda a minha jornada.

A todos os professores responsáveis pela minha formação profissional, obrigada por compartilharem seu conhecimento comigo.

A UEPB, cujo financiamento foi essencial para o desenvolvimento desse projeto.

Por fim, a todos que contribuíram direta ou indiretamente para esse fim, obrigada.

“Me pergunte o que eu aprendi depois de todos
esses anos

Me pergunte o que eu ganhei depois de tantas
lágrimas

Me pergunte por que tantos falharam, mas eu
continuo aqui”

Taylor Swift.

RESUMO

O câncer é uma patologia que afeta milhões de pessoas todos os anos. O câncer de mama é o mais prevalente entre as mulheres, enquanto nos homens o câncer de próstata tem predominância inferior apenas ao câncer de pele não melanoma. Já que ambos são cânceres considerados hormônio dependentes, eles possuem influência dos estrogênicos, e, portanto, os receptores de estrogênio são considerados alvos promissores para seu tratamento. Dessa forma, o composto (Z)-2-(acridin-9-il-metileno)-N-fenil-hidrazina-carbotiamida (3a), anteriormente bem sucedido em ensaios antiproliferativos contra células MCF-7 (carcinoma de mama) e PC-3 (próstata), além de ter exibido bons resultados de energia de ligação frente ao alvo topoisomerase II α complexada com DNA (PDB ID: 5GWK), foi utilizado como protótipo para planejamento de duas novas séries de moléculas. Utilizando estratégias de simplificação molecular, e hibridização com núcleos quinolínicos e indólicos, os derivados fenilmetanimino-acridínicos e 9-estiril acridínicos foram planejados a partir do scaffold do protótipo 3a, com o intuito de obter novas moléculas promissoras para o tratamento de câncer de mama e próstata. Considerando as diferentes substituições nos anéis dos protótipos fenilmetanimino-acridínicos, aqui chamados de MAC, e 9-estiril acridínicos, série MB, foram planejados 8 e 12 derivados, respectivamente, totalizando 20 estruturas. As moléculas provenientes desse planejamento foram docadas, utilizando o programa autodocktools, em receptores de estrogênio α (PDB ID: 5W9D) e β (PDB ID: 2FSZ), e sua energia de ligação foi comparada à do protótipo de que se originaram, ao ligante endógeno estradiol, aos antagonistas cristalizados às estruturas, 4-OHT e Endoxifeno, e ao fármaco Lasofoxifeno. Foram consideradas as moléculas mais bem sucedidas MAC-04 (ΔG 2FSZ: -9.88 kcal/mol; ΔG 5W9D: -11.20 kcal/mol), MAC-05 (ΔG 2FSZ: -9.60 kcal/mol; ΔG 5W9D: -10.29 kcal/mol), MAC-07 (ΔG 2FSZ: -9.31 kcal/mol; ΔG 5W9D: -10.25 kcal/mol), MB-11 (ΔG 2FSZ: -10.39 kcal/mol; ΔG 5W9D: -10.81 kcal/mol), MB-12 (ΔG 2FSZ: -10.22 kcal/mol; ΔG 5W9D: -10.95 kcal/mol), MB-14 (ΔG 2FSZ: -10.28 kcal/mol; ΔG 5W9D: -11.97 kcal/mol) e MB-15 (ΔG 2FSZ: -10.15 kcal/mol; ΔG 5W9D: -11.46 kcal/mol), que apresentaram um ΔG superior ao do ligante endógeno (ΔG 2FSZ: -9.70 kcal/mol; ΔG 5W9D: -9.97 kcal/mol), e do protótipo original (ΔG 2FSZ: -10.50 kcal/mol; ΔG 5W9D: -10.89 kcal/mol). Essas 7 moléculas foram então submetidas à softwares de simulação da farmacocinética *in silico*, onde foram analisados perfis de absorção, distribuição, metabolismo, toxicidade e eliminação. MB-15 foi escolhida como melhor proposta para molécula HIT, considerando seu perfil metabólico, e suas semelhanças com o perfil do 4-hidroxitamoxifeno, além do fato de que sua provável rota metabólica não gera metabólitos

tóxicos. Assim, a estratégia de modificação molecular através do bioisosterismo clássico com substituição do radical íminico, pelo radical vinílico, seguido pela hibridização molecular com adição do núcleo indólico, foi considerado o planejamento mais bem sucedido.

Palavras-Chave: câncer de mama; câncer de próstata; receptores de estrogênio; planejamento molecular; docking molecular; perfil farmacocinético.

ABSTRACT

Cancer is a disease that affects millions of people every year. Breast cancer is the most prevalent among women, while in men, prostate cancer has a lower prevalence only than non-melanoma skin cancer. Since both are considered hormone-dependent cancers, they are influenced by estrogens, and therefore estrogen receptors are considered promising targets for their treatment. Thus, the compound (Z)-2-(acridin-9-yl-methylene)-N-phenyl-hydrazine-carbothamide (3a), previously successful in antiproliferative assays against MCF-7 cells (breast carcinoma) and PC -3 (prostate), in addition to showing good binding energy results against the DNA-complexed topoisomerase II α target (PDB ID: 5GWK), was used as a prototype for designing two new series of molecules. Using molecular simplification strategies, and hybridization with quinoline and indole nuclei, the phenylmethanimino-acridine and 9-styryl acridine derivatives were designed from the scaffold of prototype 3a, in order to obtain promising new molecules for the treatment of breast cancer and prostate. Considering the different substitutions in the rings of the phenylmethanimino-acridine prototypes, here called MAC, and 9-styryl acridines, MB series, 8 and 12 derivatives were planned, respectively, totaling 20 structures. The molecules from this design were docked, using the autodocktools program, in α (PDB ID: 5W9D) and β (PDB ID: 2FSZ) estrogen receptors, and their binding energy was compared to the prototype from which they originated, to the ligand endogenous estradiol, to the crystallized ligands, 4-OHT and Endoxifene, and to the drug Lasofoxifene. The most successful molecules were MAC-04 (ΔG 2FSZ: -9.88; ΔG 5W9D: -11.20), MAC-05 (ΔG 2FSZ: -9.60; ΔG 5W9D: -10.29), MAC-07 (ΔG 2FSZ: -9.31 ; ΔG 5W9D: -10.25), MB-11 (ΔG 2FSZ: -10.39 ; ΔG 5W9D: -10.81), MB-12 (ΔG 2FSZ: -10.22 ; ΔG 5W9D: -10.95), MB-14 (ΔG 2FSZ: - 10.28; ΔG 5W9D: -11.97) and MB-15 (ΔG 2FSZ: -10.15; ΔG 5W9D: -11.46), which presented a ΔG lower than that of the endogenous ligand (ΔG 2FSZ: -9.70 ; ΔG 5W9D: -9.97), and of the original prototype (ΔG 2FSZ: -10.50; ΔG 5W9D: -10.89). These 7 molecules were then submitted to in silico pharmacokinetic simulation software, where absorption, distribution, metabolism, toxicity and elimination profiles were analyzed. MB-11 was chosen as the best proposal for HIT molecule, considering its metabolic profile, and its similarities with the profile of 4-hydroxy tamoxifen, in addition to the fact that its probable metabolic route does not generate toxic metabolites. Thus, the molecular modification strategy through classical bioisosterism with substitution of the imine radical by the vinyl radical, followed by molecular hybridization with addition of the indole nucleus, was considered the most successful design.

Key-words: breast cancer; prostate cancer; estrogen receptors; molecular design; molecular docking; pharmacokinetic profile.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Síntese metabólica dos estrogênios endógenos.....	20
Figura 2 - Ação celular dos receptores de estrogênio.....	22
Figura 3 – Receptor de estrogênio alfa (PDB: 5W9D) e receptor de estrogênio beta (PDB: 2FSZ).....	23
Figura 4 – Metabolismo do tamoxifeno.	26
Figura 5 – Estrutura básica da acridina e acridona.....	27
Figura 6 - Derivados acridínicos substituídos	28
Figura 7 – Estrutura do núcleo quinolínico.	29
Figura 8 – Derivados quinolínicos.	29
Figura 9 – Núcleo indólico e derivados.....	30
Figura 10 – Processo de simplificação molecular de origem da mefloquina.....	31
Figura 11 – Bioisósteros clássicos, não-clássicos e de anel.	32
Figura 12 – Hibridização molecular no Benorilato.	33
Figura 13 - Árvore de Decisão de Topliss.....	33
Figura 14 - Planejamento molecular da série MAC e MB	36
Figura 15 – Dockings das moléculas MB-01 e MAC-08 para os alvos 2FSZ e 5W9D e distâncias em Å.....	42
Figura 16 - Dockings das moléculas MB-02, MAC-02, MB-03 e MAC-03 para os alvos 2FSZ e 5W9D.....	43
Figura 17 - Dockings das moléculas MB-04 e MAC-07 para os alvos 2FSZ e 5W9D e distâncias em Å.....	45
Figura 18 - Dockings das moléculas MB-06 e MAC-01 para os alvos 2FSZ e 5W9D e distâncias em Å.....	46
Figura 19 - Dockings das moléculas MB-07, MAC-05 e MAC-06 para os alvos 2FSZ e 5W9D e distâncias em Å.	47
Figura 20 – Sobreposição de MAC-05 (vermelho), MAC-06 (azul) e MB-07 (amarelo) no alvo 2FSZ.	48
Figura 21 - Dockings das moléculas MB-15 e MAC-04 para os alvos 2FSZ e 5W9D e distâncias em Å.....	49
Figura 22 - Dockings das moléculas MB-11 e MB-16 para os alvos 2FSZ e 5W9D. ...	50
Figura 23 - Dockings das moléculas MB-12 e MB-17 para os alvos 2FSZ e 5W9D. ...	50
Figura 24 - Docking da molécula MB-14 para os alvos 2FSZ e 5W9D.	52

Figura 25 – Pontos de metabolismo e possível metabólito de MAC-04.....	59
Figura 26 – Pontos de metabolismo e possíveis metabólitos de MB-14.....	59
Figura 27 – Pontos de metabolismo e possíveis metabólitos de MB-15.....	60
Figura 28 - Pontos de metabolismo e possíveis metabólito de MAC-05.....	60
Figura 29 - Pontos de metabolismo e possíveis metabólitos de MB-11.....	61
Figura 30 - Pontos de metabolismo e possíveis metabólitos de MB-12.....	62
Figura 31 - Pontos de metabolismo e possíveis metabólitos de MAC-07.....	62

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Parâmetros de docking para os alvos selecionados.....	37
Tabela 2 – Resultados de docking molecular.....	40
Tabela 3 – Dados de farmacocinética das moléculas com afinidade mais promissoras, do protótipo 3 ^a , e do antagonista 4-OHT.....	54
Tabela 4 – Dados de metabolismo das moléculas planejadas com hemoproteínas da CYP450.....	58

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	15
2 OBJETIVOS	17
2.1 Objetivo geral.....	17
2.2 Objetivo específico.....	17
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	18
3.1 Câncer de mama	18
3.2 Câncer de Próstata	19
3.3 Estrogênios	20
3.4 Receptores de estrogênio α e β.....	21
3.4.1 ERα no CM.....	24
3.4.2 ERα no CP.....	24
3.4.3 ERβ no CM.....	25
3.4.4 ERβ no CP	25
3.5 Moduladores seletivos do receptor de estrogênio: Tamoxifeno	25
3.6 Acridina e seus derivados.....	27
3.7 Derivados quinolínicos	28
3.8 Derivados indólicos.....	30
3.9 Estratégias de Modificação Molecular	31
3.9.1 Simplificação molecular.....	31
3.9.2 Bioisosterismo Clássico, não-clássico e de anel.	31
3.9.3 Hibridização Molecular.....	32
3.9.4 Árvore de decisão de Topliss	33
3.10 Estratégias in sílico.	34
3.10.1 Docking	34

3.10.2 Farmacocinética	35
4. METODOLOGIA	36
4.1 Planejamento dos derivados fenilmetanimino-acridínicos e 9-estiril-acridínicos	36
4.2 Docking Molecular	36
4.4 Perfil Farmacocinético in Silico	38
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
5.1 Docking molecular	39
5.2 Perfil Farmacocinético	52
5.2.1 Absorção, Distribuição, Excreção e Toxicidade	53
5.2.2 Metabolismo	56
6. CONCLUSÃO	64
REFERÊNCIAS	65
APÊNDICES	76

1 INTRODUÇÃO

O câncer é uma doença causada por uma multiplicação celular desordenada ocasionada por mutações nos genes que codificam as proteínas reguladoras do ciclo celular, gerando células cancerosas que não são afetadas pela morte celular programada, e podem migrar para outros locais do corpo, gerando metástase (BERNARDES, et al., 2019).

Em 2020, foram diagnosticados 2.26 milhões de novos casos de câncer de mama (CM) no mundo, sendo a causa mais comum de morte por câncer em mulheres. No Brasil, o risco cumulativo de ter, ou morrer em razão do CM até os 74 anos é de 10.4% (IARC, 2020).

Para o câncer de próstata (CP), esse risco cumulativo chega a 20% (IARC, 2020). Com mais de 65.840 novos casos estimados para o Brasil no ano de 2020, sua prevalência em homens é inferior apenas ao câncer de pele não melanoma (INCA, 2022).

Os estrogênios têm influência em cânceres considerados hormônio dependentes, como o de mama, endométrio, próstata, ovário e tireóide, sendo os subtipos mais conhecidos e estudados o estrogênio alfa, e o beta (CARRUBA, 2006).

No caso do CP, a ação dos estrogênios não está completamente elucidada, mas sabe-se que os estrogênios em sinergismo com os androgênios, induzem o CP (NILSSON et al., 2000). No CM essa relação já é bem esclarecida, sendo o CM principalmente estrogênio receptor positivo (ER+) e depende diretamente dos estrogênios para sobrevivência e progressão da doença (SILVA, 2017). O receptor de estrogênio β parece estar relacionado à supressão de tumores de câncer de próstata e mama, enquanto o receptor de estrogênio alfa estimula a proliferação celular nesses locais.

A quimioterapia antineoplásica é uma das terapias mais utilizadas no tratamento do câncer, podendo ser utilizada de forma isolada ou em combinação com outras modalidades de tratamento (SANTOS et al., 2015).

Considerando os problemas relacionados à utilização de quimioterápicos, a busca por novos agentes anticâncer mais seguros e efetivos se faz necessária. Nesse ínterim, os derivados acridínicos têm sido amplamente explorados para essa finalidade, já que sua planaridade permite a alta intercalação ao DNA, bem como a interação e inibição de enzimas fundamentais como telomerase, proteínas quinases e topoisomerases tipo I e II. A inibição das enzimas topoisomerase I e II ocasiona danos ao DNA e interrompe o reparo e a replicação do DNA, induzindo a morte celular (CHEN; et al. 2019; GOUVEIA; et al. 2018).

Almeida e colaboradores (2015) utilizou o núcleo acridínico como scaffold e realizou modificações em sua estrutura a partir da adição de diferentes porções tiosemicarbazidas

substituídas. Dentre os compostos obtidos, o (Z)-2-(acridin-9-il-metileno)-N-fenil-hidrazina-carbotiamida (3a) foi o mais ativo em ensaio antiproliferativo, com valores de GI50 inferiores a 10 μM para todas as linhas de células tumorais, incluindo células MCF-7 (carcinoma de mama) e PC-3 (próstata). Além disso, em estudo desenvolvido por Filho e colaboradores (2019), apresentou valor de $\Delta G = -9.12 \text{ kcal mol}^{-1}$ e a Amsacrina (*m*-AMSA) $\Delta G = -10,34 \text{ kcal mol}^{-1}$, no docking molecular frente ao alvo topoisomerase II α complexada com DNA (PDB ID: 5GWK). A *m*-AMSA é um conhecido intercalador de DNA e inibidor de Topo II. Em estudo *in vitro* frente DNA plasmidial pUC19, a molécula 3a foi capaz de inibir a topoisomerase II de forma semelhante a *m*-AMSA, ambas na concentração de 100 μM .

Assim, nesse trabalho foram planejados novos derivados fenilmetanimino-acridínicos e 9-estiril acridínicos, através da simplificação molecular do protótipo 3a, e hibridização com os núcleos quinolínico e indólico, baseados no *scaffold* de acridina. Sua afinidade com os receptores α e β de estrogênio foi calculada por meio dos estudos de docking molecular. A previsão dos perfis farmacocinéticos das drogas consideradas mais promissoras foi estimada utilizando softwares disponíveis gratuitamente.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Desenvolver novos derivados acridínicos com potencial ação antitumoral para câncer de mama e próstata por meio de planejamento racional *in silico*.

2.2 Objetivo específico

- Planejar novos derivados acridínicos a partir do scaffold de um protótipo conhecido.
- Realizar estudos de docking molecular dos compostos planejados nos alvos receptor α de estrogênio, e receptor β de estrogênio.
- Avaliar o perfil farmacocinético das moléculas mais promissoras por métodos *in silico*.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Câncer de mama

O câncer de mama (CM) especificamente, é um tumor maligno que se desenvolve no tecido da mama, e é a causa mais comum de morte por câncer em mulheres. Em 2020, foram diagnosticados 2.26 milhões de novos casos no mundo, e cerca de 685.000 mulheres morreram da doença (IARC, 2022).

Como as células da mama são indiferenciadas desde a concepção, estas são mais susceptíveis a substâncias carcinogênicas. Fatores como uso de contraceptivos orais, terapia de reposição hormonal, hiperinsulinemia, densidade mamária aumentada, exposição a radiação ionizante, histórico familiar, idade avançada e ausência de amamentação são reconhecidamente relacionados com chances aumentadas de ter câncer de mama (ANOTHAISINTAWEE, et al., 2013; BERNARDES, et al., 2019).

Os principais métodos de diagnóstico da doença incluem exames de imagem como mamografia, ressonância magnética, PET (tomografia por emissão de pósitrons), tomografia computadorizada e SPECT (tomografia computadorizada de emissão de fóton único), associados a marcadores bioquímicos como as proteínas ERBB2, ER e Ki67, mRNAs (ER α , ER β e ER γ), enzimas (CEA e TSGF) e microRNAs (miR-21, miR-10b, miR-155, e miR-145) (JAFARI, et al., 2017).

Existem 4 subtipos principais de CM com base na presença ou ausência de marcadores moleculares para receptores de estrogênio (ER) ou progesterona (PR), e fator de crescimento epidérmico humano 2 (ERBB2). Eles podem: 1º - possuir positividade de ER ou PR e negatividade de ERBB2; 2º - ser positivos para ER ou PR, e ERBB2; 3º negativos para ER e PR, e positivos para ERBB2; e 4º - serem negativos para todos os marcadores, também chamados de triplo negativos. O primeiro tipo é o mais comum, e o triplo negativo possui o pior prognóstico (DAI, XIANG, & BAI, 2016).

O subtipo de câncer de mama orienta a terapia padrão administrada. Para os tumores ER ou PR positivos, o tratamento consiste em terapia endócrina (com alguns pacientes também necessitando de quimioterapia), para todos os tumores ERBB2+, terapia de anticorpos dirigida para ERBB2 baseada em trastuzumabe, com terapia hormonal administrada adicionalmente, se houver positividade de RH concomitante, e quimioterapia isolada para câncer de mama triplo negativo (WAKS & WINER, 2019).

3.2 Câncer de Próstata

O câncer de próstata é o segundo mais incidente em homens no Brasil, tendo apresentado mais de 65.000 novos casos em 2020 (INCA, 2022). Uma característica distintiva do câncer de próstata é sua íntima associação com o envelhecimento; na verdade, o envelhecimento é o fator de risco mais significativo para o câncer de próstata, sendo que o câncer de próstata clinicamente detectável geralmente não se manifesta até a idade de 60 ou 70 anos. Além da idade, fatores como etnia, homens negros tem até 3 vezes mais chances de ter câncer de próstata do que homens brancos, e história familiar positiva de câncer de próstata também possuem influência na incidência da doença (PERNAR, EBOT, WILSON, & MUCCI, 2018; RAWLA, 2019)

O padrão para diagnóstico do câncer de próstata é baseado na avaliação microscópica do tecido prostático obtido por meio de biópsia por agulha, embora essa abordagem deixe de diagnosticar até 21% dos casos positivos de câncer de próstata. Assim, marcadores bioquímicos como o antígeno prostático específico (PSA), antígeno prostático 3 (PCA3), além de exames de imagem como a ressonância magnética multiparamétrica, auxiliam na obtenção do diagnóstico final (LITWIN & TAN, 2017).

A natureza heterogênea e multifocal das lesões do câncer de próstata apresenta dificuldades significativas para os pesquisadores. Por exemplo, lesões neoplásicas individuais dentro de uma determinada seção de tecido de câncer de próstata, mesmo quando próximas, foram descritas como geneticamente distintas. Por convenção, para abarcar essa heterogenicidade a escala de Gleason foi adotada. Nesse método, uma biópsia sistemática da próstata é realizada usando ultra-som transretal para obter 10 a 12 amostras de tecido em um padrão semelhante a uma grade. Um patologista examina essas amostras e emite um grau de Gleason primário para o padrão histológico predominante, e um grau secundário para o padrão mais alto, ambos em uma escala de 1 a 5 com base na arquitetura microscópica e aparência das células, a soma desses padrões determina o grau da doença (ABATE-SHEN & SHEN, 2000; LITWIN & TAN, 2017).

A sinalização do receptor de hormônio esteróide desempenha um papel fundamental em todos os estágios da carcinogênese da próstata. Em particular, há uma diminuição característica relacionada à idade na proporção de andrógenos/estrogênios em homens, o que pode representar um fator contribuinte no início do câncer de próstata (ABATE-SHEN & SHEN, 2000).

A escolha de tratamento para o câncer de próstata depende de vários parâmetros, que incluem estágio clínico e níveis PSA. Para pacientes em estágio I-III, o tratamento padrão inclui acompanhamento, prostatectomia e radioterapia. Para todos os pacientes em estágio IV e estágio III de alto risco, a ablação de andrógenos por castração cirúrgica ou química pode trazer remissão sustentada. Antiandrogênicos de primeira geração, como flutamida e bicalutamida, auxiliam nesse cenário (TREWARTHA & CARTER, 2013).

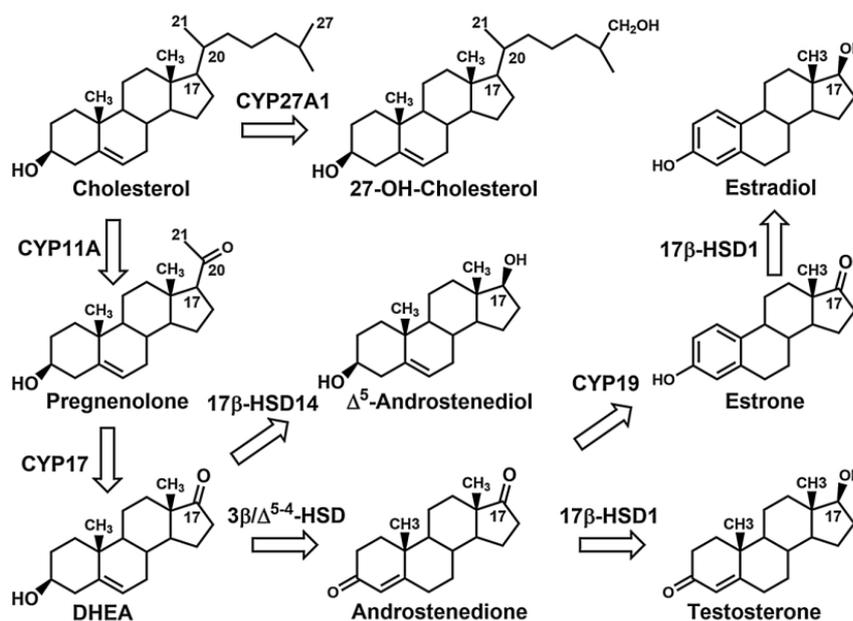
Alguns efeitos colaterais negativos dos tratamentos de escolha incluem níveis séricos de testosterona não são suprimidos e que podem até aumentar, no caso de uso de antiandrogênicos não esteróides. Em contraste, o único antiandrogênico esteroidal acetato de ciproterona também possui propriedades antigonadotróficas, além da interferência na ligação às proteínas plasmáticas, aumentando as chances de interações com outras drogas (WIRTH, HAKENBERG, & FROEHNER, 2007).

3.3 Estrogênios

Os estrogênios compreendem um grupo de moléculas hormonalmente ativas e estruturalmente relacionadas que regulam vias críticas de sinalização celular e, ao fazê-lo, controlam a proliferação, diferenciação e homeostase celular. Dentre eles temos os estrogênios endógenos 17β -estradiol, e seus metabólitos estrona e estriol, que são esteróides C18 derivados do colesterol (CHESKIS, GREGER, NAGPAL, & FREEDMAN, 2007).

Esses esteróides são sintetizados a partir do colesterol por uma série de reações enzimáticas mediadas por enzimas P450 e não-P450, incluindo P450_{scc} (CYP11A), P450_{17 α} (CYP17), aromatase (CYP19), proteína reguladora aguda esteroideogênica (StAR), 3β hidroxisteróide desidrogenase (3β -HSD) e 17β hidroxisteróide desidrogenase (17β -HSD14). A proteína StAR é responsável por levar o colesterol até a membrana mitocondrial interna, onde este é convertido em pregnanodiona (PREG) por P450_{scc}, dehidroepiandrosterona (DHEA) por P450_{17 α} , androstenediona (ADione) por 3β HSD, testosterona (T) por 17β -HSD, e finalmente 17β -estradiol por AROM nos microssomas (BIAN, ZHU, ZHAO, CAI, & ZHANG, 2014), conforme Figura 1.

Figura 1 – Síntese metabólica dos estrogênios endógenos.



Fonte: Baker e Lathe (2018).

Nas mulheres, as fontes primordiais de estrogênio são as células da teca, que secretam andrógenos, e da granulosa dos ovários, onde esses andrógenos são aromatizados em estrogênios, e os derivados luteinizados dessas células. A estrona e o estriol são formados principalmente no fígado a partir do estradiol. Nos homens, os testículos são responsáveis pela produção de apenas 20% dos estrogênios circulantes, com o restante da produção local pelo tecido adiposo, cérebro, pele e osso, que convertem a testosterona em estrogênio através das ações da aromatase (COOKE, NANJAPPA, KO, PRINS, & HESS, 2017; GRUBER, TSCHUGGUEL, SCHNEEBERGER, & HUBER, 2002)

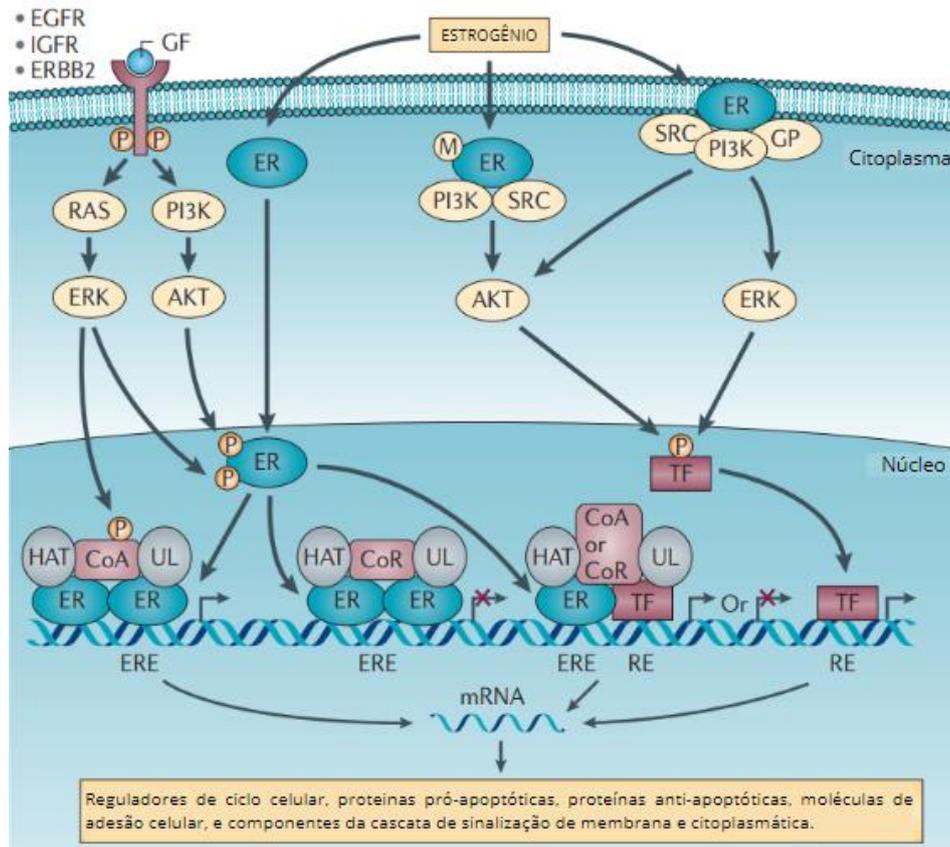
3.4 Receptores de estrogênio α e β

As ações biológicas dos estrogênios são manifestadas apenas em células que expressam receptores de estrogênio (ER), tendo seus efeitos biológicos mediados por sua ligação a um dos ERs estrutural e funcionalmente distintos, o receptor de estrogênio- α (ER α) e o receptor de estrogênio- β (ER β). Os ERs são compostos por três domínios funcionais: o domínio do terminal NH₂ (NTD), o domínio de ligação ao DNA (DBD) e o domínio de ligação ao ligante COOH terminal (LBD). O NTD engloba um domínio de função de ativação independente de ligante (AF1) envolvido na ativação transcricional de genes alvo, e com apenas 16% de similaridade entre ER α e ER β . O DBD é altamente conservado entre ER α e ER β com 97% de identidade de aminoácidos e medeia a ligação específica de sequência de ERs a sequências de DNA em genes-

alvo denominados elementos responsivos ao estrogênio (EREs). Em contraste, os LBDs de ER α e ER β mostram uma identidade geral de sequência de aminoácidos de 59%, mas as bolsas de ligação ao ligante dos dois subtipos mostram apenas pequenas diferenças na estrutura, o que sugere que, embora o ER β possa se ligar aos mesmos genes alvo que o ER α , ele pode ter diferentes ligantes específicos (ROY & VADLAMUDI, 2012; JIA, DAHLMAN-WRIGHT, & GUSTAFSSON, 2015; OMOTO & IWASE, 2015).

Embora a maioria dos ER esteja localizada no núcleo, há evidências de que uma pequena fração está localizada na membrana celular ou perto dela, na presença ou ausência de E2. Classicamente, quando ligantes como o estrogênio ligam-se aos ERs, os complexos ligante-ER dimerizam, e se ligam ao DNA em elementos de resposta sequência-específicas, os EREs. Alternativamente, esses receptores (ER α podem ser metilados (M)) podem interagir com a proteína quinase SRC, a família de enzimas PI3K, e proteínas G (GPs) e mediar a sinalização não genômica. Esta sinalização através da ativação de cascatas de proteína quinase resulta na fosforilação e ativação de fatores de transcrição de ligação direta ao DNA (TFs) alvo, capazes de regular a transcrição através do elemento de resposta (RE) do fator de transcrição. Receptores de fatores de crescimento, como o fator de crescimento epidérmico (EGFR), incluindo ERBB2, e o fator de crescimento semelhante à insulina (IGFR), podem ativar ERK e AKT serina/treonina quinases, que podem fosforilar e ativar ERs de maneira independente do ligante. No núcleo, os ERs interagem com complexos multiproteicos co-ativadores (CoA) ou co-repressores (CoR) para ativar ou reprimir a transcrição gênica, respectivamente. O núcleo desses complexos multiproteicos é o ativo (fosforilado (P)) co-ativador ou co-repressor que recruta proteínas co-reguladoras, como histona acetiltransferase (HAT) e ubiquitina ligase (UL). Os ERs podem alternativamente regular a expressão gênica se ligando aos ERE que estão próximos ao RE, que interagem ou podem interagir indiretamente com a cromatina por meio da ligação ao fator de transcrição parceiro. As etapas são descritas na Figura 2 (THOMAS & GUSTAFSSON, 2011; SHANLE & XU, 2011; CHESKIS, GREGER, NAGPAL, & FREEDMAN, 2007).

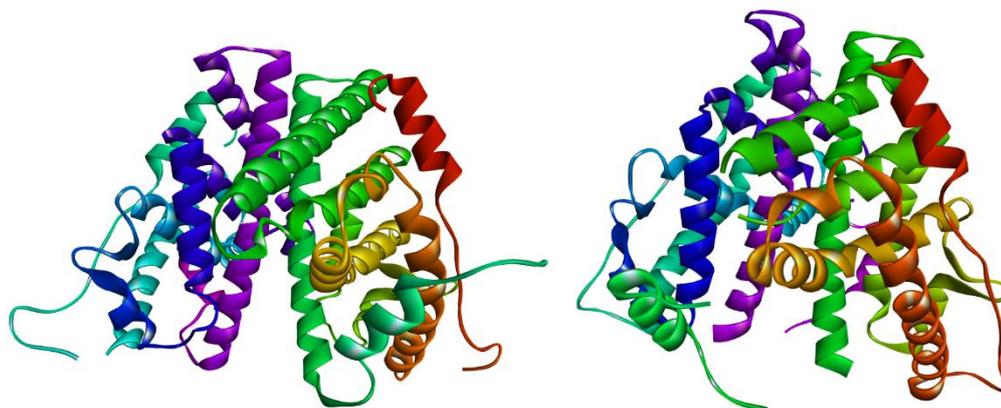
Figura 2- Ação celular dos receptores de estrogênio



Fonte: Thomas e Gustafsson (2011, com adaptações).

As diversas ações de estrogênios e inibidores competitivos da ligação estrogênio-ER nos cânceres de mama, endométrio e próstata, em combinação com a variação da proporção $ER\alpha/ER\beta$ nesses tecidos, indicam que os subtipos de ER têm diferentes funções na biologia e terapia do câncer (MCDONNELL & NORRIS, 2002). Embora os receptores tenham DNA semelhante, seus genes codificadores estão em cromossomos diferentes. Ambos os receptores possuem 4 domínios funcionais, o domínio de ligação ao DNA, o domínio de interação com o ligante e proteínas reguladoras, e os domínios C e N-terminais. Dentre esses, apenas 55% da sequência de aminoácidos é compartilhada no domínio de interação ao ligante dos receptores, além do alto grau de variabilidade do domínio N-terminal, levando $ER\alpha$ e $ER\beta$ a exibirem algumas propriedades únicas em termos de seletividade de ligante e regulação do gene alvo (GRUBER, TSCHUGGUEL, SCHNEEBERGER, & HUBER, 2002). As estruturas cristalográficas dos receptores estão descritas na Figura 3.

Figura 3 – Receptor de estrogênio alfa (PDB: 5W9D) e receptor de estrogênio beta (PDB: 2FSZ).



Fonte: Imagem obtida no software Discovery Studio, 2022.

3.4.1 ER α no CM

O receptor de estrogênio alfa (ER α), é um receptor de hormônio esteroide e um fator de transcrição que, quando ativado pelo estrogênio, ativa vias de crescimento oncogênico em células de câncer de mama, sendo expresso em aproximadamente 70% dos cânceres de mama invasivos (WAKS & WINER, 2019).

Quando acoplado ao ligante, o ER α estimula o aumento da proteína JAG1 nas células MFC-7, linhagem celular do CM, acarretando uma proliferação exacerbada destas (COSTA, 2018).

3.4.2 ER α no CP

ER α está presente em alterações pré-malignas da próstata humana e no câncer de próstata avançado, onde exibe efeitos oncogênicos, e promove a proliferação e sobrevivência celular de células cancerígenas (OMOTO & IWASE, 2015).

Enquanto as células luminais que expressam o ER β em altos níveis são particularmente vulneráveis e sofrem morte celular programada após terapia de privação de androgênio (ADT), radiação e quimioterapia, as células basais equipadas com o ER α são multirresistentes e sobrevivem a tais condições citotóxicas. Além disso, o tratamento crônico com testosterona + estradiol foi incapaz de induzir HGPIN (neoplasia intraepitelial prostática de alto grau) ou câncer de próstata quando o ER α foi eliminado em um modelo de camundongo, indicando que um ER α funcional é necessário para o desenvolvimento de câncer de próstata neste modelo (BONKHOFF, 2017).

Portanto, para esse alvo é preciso pensar em novas moléculas que sejam capazes de antagonizar a atividade do receptor, inibindo sua ação proliferativa.

3.4.3 ER β no CM

Aproximadamente 80% das células epiteliais normais da mama expressam ER β . Sua expressão é reduzida, até mesmo ausente, durante a progressão do CM, e sua reexpressão em linhagens celulares de CM inibe a proliferação celular, promove apoptose e aumenta a eficácia de agentes quimioterápicos. No nível molecular, o ER β é conhecido por inibir tanto a transcrição de ER α induzida pelo estradiol, quanto a proliferação de células cancerígenas T47D e MCF7 (JIA, DAHLMAN-WRIGHT, & GUSTAFSSON, 2015; ARNAL, et al., 2017).

Um estudo usando glândulas mamárias de ratos revelou que ER β foi expresso em 60-70% das células em todos os estágios de desenvolvimento, no entanto, 90% das células que expressam ER β não expressaram marcadores de proliferação (OMOTO & IWASE, 2015).

3.4.4 ER β no CP

Usando um sistema de entrega adenoviral para induzir a expressão de ER β em células de câncer prostático, foi demonstrado que o ER β tem efeitos antiproliferativo, anti-invasivo e pró-apoptótico. A hipótese mais aceita para explicar a ação do ER β no CP, é que a ligação de 3 β -estradiol ao receptor ativa o mesmo, e induz a apoptose pela regulação positiva do fator pró-apoptótico p53 e regulação positiva do modulador da apoptose (PUMA), efeito que implica o fator de transcrição FOXO3a (THOMAS & GUSTAFSSON, 2011; CHRISTOFOROU & CHRISTOPOULOS, 2014).

Desta forma, fármacos que atuem de forma agonista nesses receptores são favoráveis para desenvolvimento de novas terapias que possam auxiliar ou combater o CM e CP, sendo considerados promissores no campo da química medicinal.

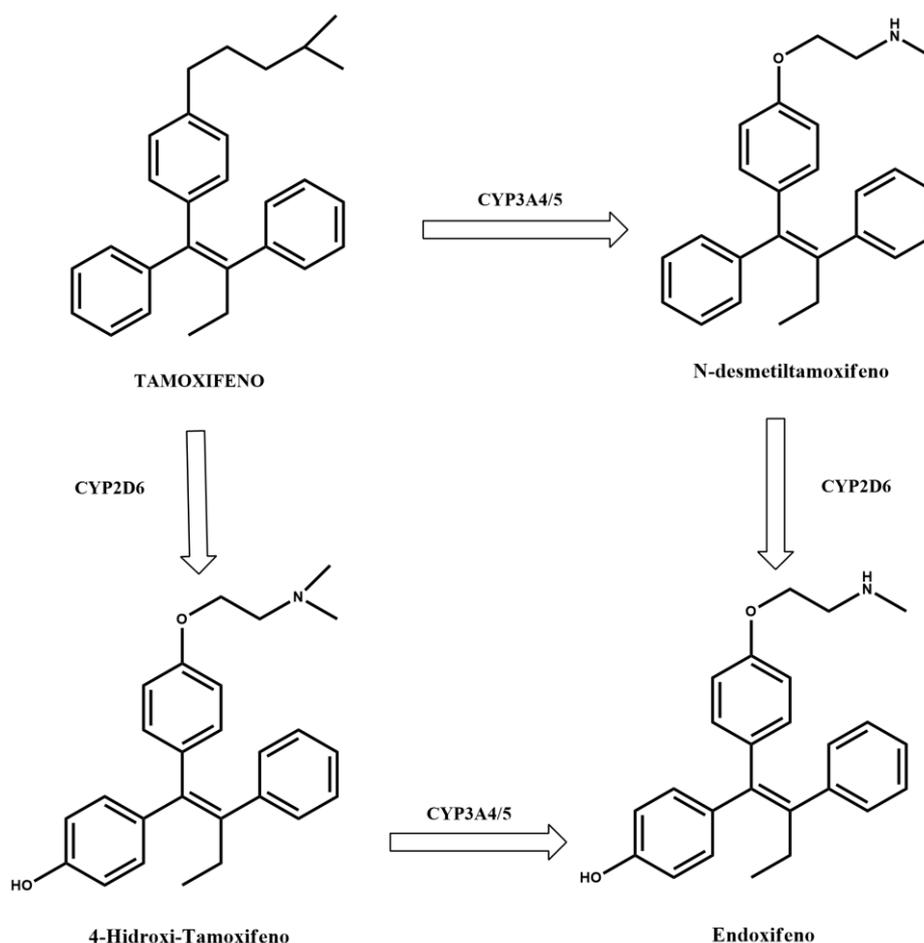
3.5 Moduladores seletivos do receptor de estrogênio: Tamoxifeno

O tamoxifeno (TMX) antagoniza o ER α nas células mamárias, inibindo assim o esquema de progressão do câncer de mama mediado pelo receptor. No entanto, é um agonista do ER α no endométrio, o que contribui para o aumento do risco de câncer endometrial após exposição prolongada (SHANLE & XU, 2011).

O composto administrado aos pacientes é o trans - tamoxifeno (como o sal citrato), porque este isômero tem maior afinidade pelos receptores de estrogênio do que o isômero cis. O TMX possui não apenas propriedades antiestrogênicas, mas também estrogênicas, dependendo da espécie, tecido e gene. A explicação para isso está na dupla atividade exibida pelo TMX, a atividade agonista de estrogênio do tamoxifeno pode explicar seus efeitos favoráveis no osso, e nas concentrações de lipídios no soro, e sua capacidade de estimular o endométrio, e sua atividade antagonista de estrogênio no tecido mamário é responsável por sua capacidade de inibir o crescimento do tumor (OSBORNE, 1998).

O TMX é metabolizado principalmente por diferentes enzimas do citocromo P-450 em seus metabólitos primários, o N-desmetil-tamoxifeno (NDM-tamoxifeno) e o 4-hidroxi-tamoxifeno. A partir daí, ocorre uma segunda transformação de seus metabólitos primários no metabólito ativo endoxifeno, 30 vezes mais potente que o TMX, conforme descrito na Figura 4 (SANCHEZ-SPITMAN, et al., 2019).

Figura 4– Metabolismo do tamoxifeno.



Fonte: Jordan (2007, com adaptações).

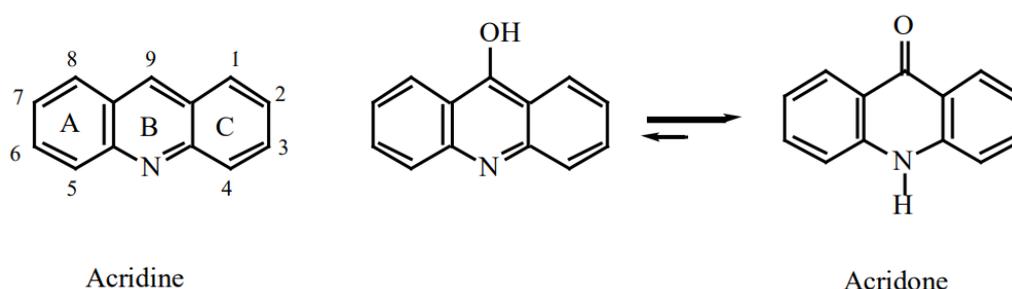
Apenas 70% dos cânceres de mama ER α positivos respondem ao tratamento com tamoxifeno, e 30-40% das pacientes que recebem a terapia se tornam resistentes. Essa resistência se dá de duas formas: ou pela perda espontânea da expressão do ER α ou pela metilação anormal deste receptor. Quando isso ocorre, há um aumento da capacidade de invasão celular e a perda de função do supressor tumoral p53. Além disso, há um aumento de quatro vezes no câncer de endométrio em mulheres na pós-menopausa tratadas com tamoxifeno (COSTA, 2018; JIA, DAHLMAN-WRIGHT, & GUSTAFSSON, 2015; JORDAN V. C., 2003).

3.6 Acridina e seus derivados

Acridina (ACRi), juntamente com seu análogo funcional Acridona (ACRo), é um farmacofóforo privilegiado em química medicinal, com diversas aplicações que vão desde intercaladores de DNA, mimetizadores de endonuclease, sensores seletivos de íons ríonométricos, inibidores de glicoproteína P no combate à resistência a múltiplas drogas, inibidores de enzimas, reversões de distúrbios neurodegenerativos, além de possuírem atividades fungicida, antiparasitária, antimicrobiana, antitumoral, anti-inflamatória e analgésica estão muito bem documentados na literatura (PRASHER & SHARMA, 2018; SONDHI, et al., 2009).

Do ponto de vista estrutural, as drogas de acridina derivam de dois cromóforos, a própria acridina e 9-hidroxiacridina ou acridona (Figura 5). A estrutura única do anel planar permite que os derivados de acridona atuem como intercaladores de DNA, e como inibidores das enzimas topoisomerase ou telomerase (DEMEUNYNCK, CHARMANTRAY, & MARTELLI, 2001; GENSICKA-KOWALEWSKA, CHOLEWINLI, & DZIERZBICKA, 2017).

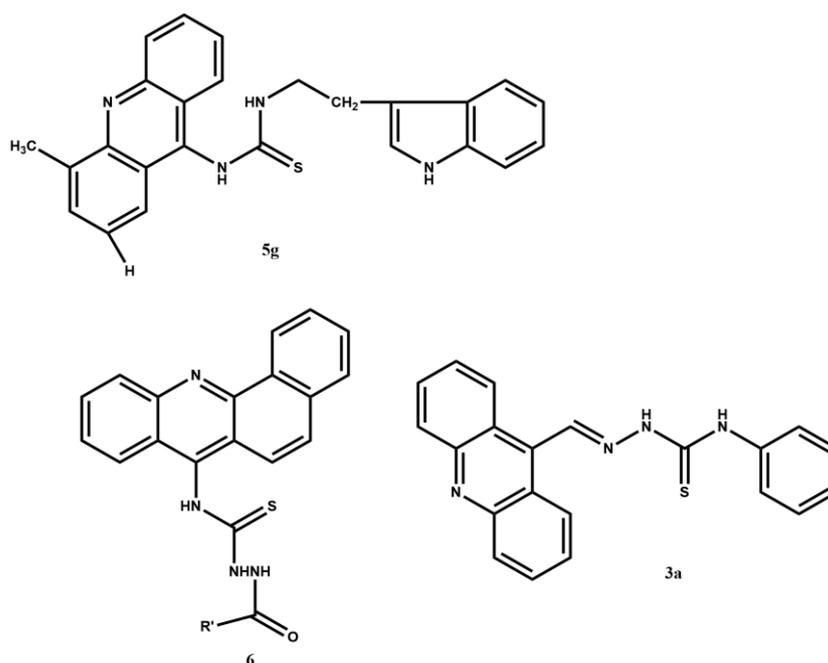
Figura 5 – Estrutura básica da acridina e acridona



Fonte: Demeunynck, Charmantray e Martelli (2001).

Estudos recentes com derivados acridínicos substituídos demonstraram sucesso em linhagens de células de câncer. Os derivados sintetizados e purificados por Sandhi e colaboradores (2010), apresentaram uma excelente atividade anti-inflamatória e anti-câncer, sendo que **5g** (1-(2-(1H-indol-3-yl)ethyl)-3-(4-methylacridin-9-yl)thiourea) foi capaz de inibir em 95% o crescimento de células da linhagem MCF-7 para câncer de mama. Chen e colaboradores (2019) avaliaram a atividade antiproliferativa e antimicrobiana de híbridos acridínicos tiossemicarbazidas (**6**), e apesar de exibirem uma boa atividade em outras linhagens celulares, nenhuma molécula foi considerada ativa contra linhagens MCF-7. Novos derivados tiossemicarbazido-acridínicos foram sintetizados por Almeida et al. (2015), e foram submetidos à ensaios antiproliferativos contra diversas linhagens celulares, incluindo MCF-7 e PC-3 (próstata). Para todas as linhagens celulares, o derivado 3a ((Z)-2-(acridin-9-il-metileno)-N-fenil-hidrazina-carbotiamida (**3a**)) foi capaz de inibir o crescimento celular de uma maneira dependente da dose, com valores de GI50 inferiores a 10 μ M para todas as linhas celulares tumorais (Figura 6).

Figura 6 - Derivados acridínicos substituídos



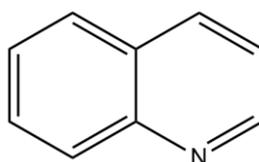
Fonte: Elaborado pela autora (2022).

3.7 Derivados quinolínicos

A quinolina (Figura 7), ou 1-azanaftaleno, é uma molécula aromática azotada que apresenta dois anéis fundidos, dos quais um é benzênico e o outro piridínico. O núcleo

quinolínico é considerado um núcleo privilegiado, uma vez que é um dos principais elementos na construção de compostos com atividade biológica. Além disso, o núcleo quinolínico está presente em vários produtos naturais, especialmente em alcalóides, e é frequentemente utilizado para o desenho de muitos compostos sintéticos com diversas propriedades farmacológicas (DIEDRICH, 2018; KUMAR, BAWA E GUPTA, 2009).

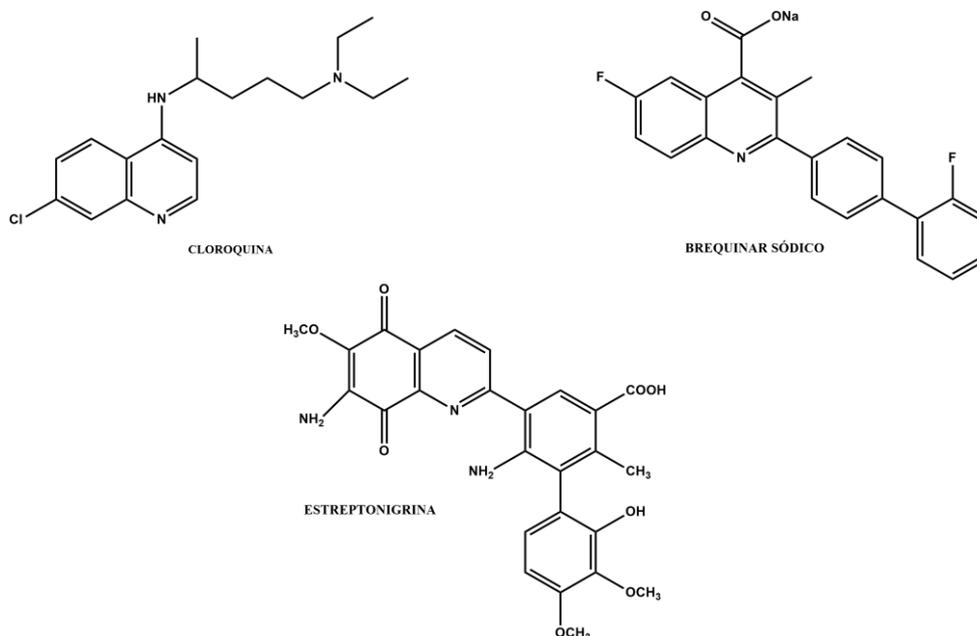
Figura 7 – Estrutura do núcleo quinolínico.



Fonte: Diedrich (2018, com adaptações).

Talvez o derivado quinolínico mais famoso atualmente seja a 7-cloro-4(4-dietilamino-1-metilbutilamino)-quinolina, ou cloroquina (CQ). A CQ é um quimioterápico importante devido à sua potente atividade antiparasitária, além de ação antipirética e anti-inflamatória. Além da CQ, também existem os fármacos obtidos a partir de fontes naturais, como estreptonigrina, que possui ação antibiótica e antineoplásica contra linfomas, melanomas e câncer de mama, e por via sintética, como o imunossupressor brequinar sódico, conforme ilustrado pela Figura 8 (PINHEIRO, BISPO, & SOUZA, 2010; SCALERCIO, 2010).

Figura 8 – Derivados quinolínicos.



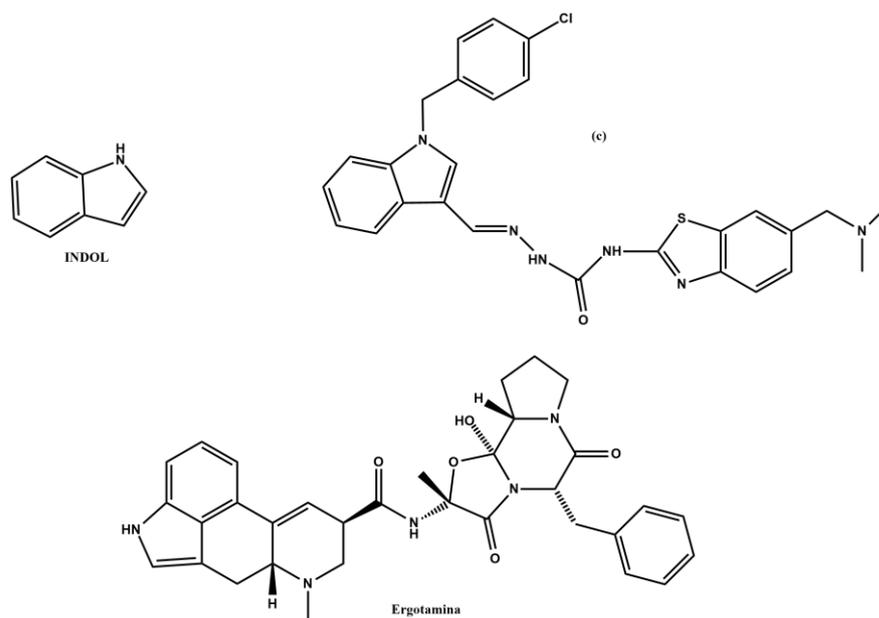
Fonte: Elaborado pela autora (2022).

3.8 Derivados indólicos

O indol, também conhecido benzopirrol, é um composto químico orgânico com fórmula C_8H_7N contendo um anel benzênico de seis membros, fundido ao anel pirrol de cinco membros com um nitrogênio (Figura 9), e é relatado como uma estrutura importante no campo da química medicinal, com propriedades biológicas antiinflamatórias, anticonvulsivantes, cardiovasculares e antibacterianas (KUMAR et al., 2020; RANI et al, 2004).

Vários derivados indólicos tem importância clínica e estão disponíveis no mercado, como a ergotamina, que possui ação de contração da musculatura uterina, alívio da enxaqueca, supressão da lactação e tratamento do carcinoma mamário. Além disso, novos derivados de benzotiazol à base de indol apresentaram excelente atividade antitumoral contra células cancerosas de mama, com destaque para o composto (E)-1-((1-(4-clorobenzil)-1H - indol-3-il)metileno)-4-(6((dimetilamino)metil)benzo[d]tiazol-2-il) semicarbazida (figura 9, (c)) (KUMARI & SINGH, 2019; MA, et al., 2015).

Figura 9 – Núcleo indólico e derivados.



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Mediante a importância biológica já descrita na literatura desses compostos, a química medicinal usa de suas ferramentas no planejamento de novos candidatos a fármacos utilizando partes e/ou sub-estruturas desses compostos na construção de novos *Scaffolds* promissores, seletivos e seguros.

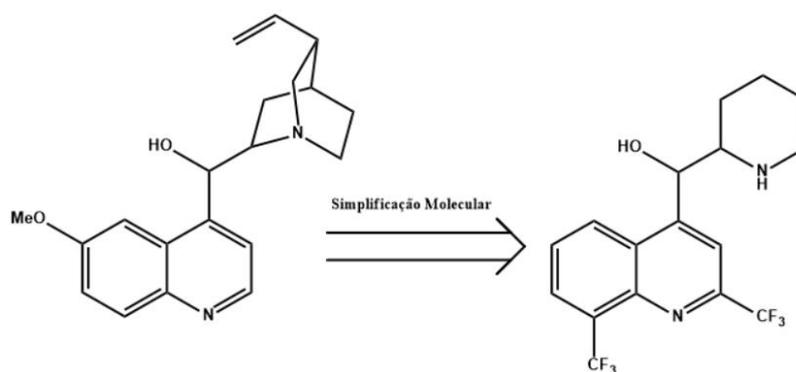
3.9 Estratégias de Modificação Molecular

3.9.1 Simplificação molecular

Durante o processo de otimização do composto hit para a molécula protótipo, os químicos medicinais sempre tentam melhorar a afinidade de ligação ao alvo e maximizar a potência *in vitro* das mesmas, o que geralmente leva a compostos com maiores pesos moleculares e lipofilicidades, resultando em propriedades físico-químicas e propriedades farmacocinéticas indesejáveis, o que aumenta a taxa de falha do medicamento final. Já que medicamentos menos complexos são mais propensos a alcançar o mercado, a estratégia de simplificação molecular é implementada de modo a preservar as sub-unidades farmacofóricas, previamente identificadas no composto-protótipo eleito, e eliminar as partes da molécula que sejam “desnecessárias” para sua interação com o alvo, otimizando seu perfil de absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade. Um bom exemplo é a quinina, um alcalóide que originou, por simplificação molecular planejada, os derivados antimaláricos da classe dos quinolinometanóis, a exemplo da mefloquina (Figura 10) (WANG, DONG e SHENG, 2019; BARREIRO, 2002).

A simplificação molecular nem sempre implica numa redução estrutural, mas em uma diminuição de sua complexidade.

Figura 10 – Processo de simplificação molecular de origem da mefloquina

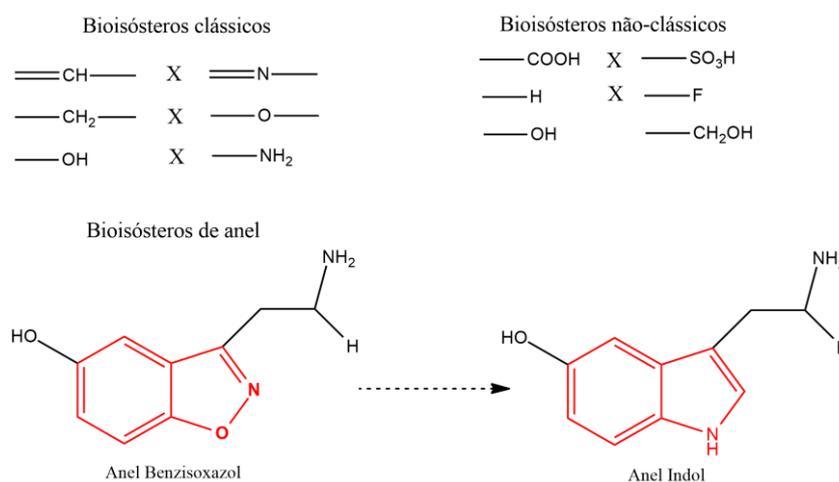


Fonte: Barreiro (2002), adaptado.

3.9.2 Bioisosterismo Clássico, não-clássico e de anel.

O bioisosterismo é outra estratégia da Química Medicinal para o desenho racional de novos fármacos, a partir de um composto protótipo, como um processo especial de modificação molecular. Os isósteros foram inicialmente definidos como aqueles compostos ou grupos de átomos que possuem o mesmo número de elétrons na camada de valência. A capacidade de um grupo de bioisósteros de induzir atividade biológica semelhante tem sido atribuída a propriedades físico-químicas comuns. Os bioisósteros clássicos são aqueles que obedecem às regras de definição de isósteros, e podem ser classificados em 5 categorias: 1º Átomos ou grupos monovalentes, 2º Átomos ou grupos divalentes, 3º Átomos ou grupos trivalentes, 4º átomos ou grupos tetrasubstituídos, 5º Anéis equivalentes (bioisosterismo de anel). Já os não clássicos não obedecem à definição estérica e eletrônica, além de não possuírem o mesmo número de átomos que o substituinte, ou fração para a qual são usados como substitutos, e são divididos em 1º Cíclicos e Não-cíclicos, 2º Grupos funcionais e 3º retroisosterismo, conforme representado na Figura 11 (PATANI E LAVOIE, 1996; LIMA E BARREIRO, 2005).

Figura 11 – Bioisósteros clássicos, não-clássicos e de anel.



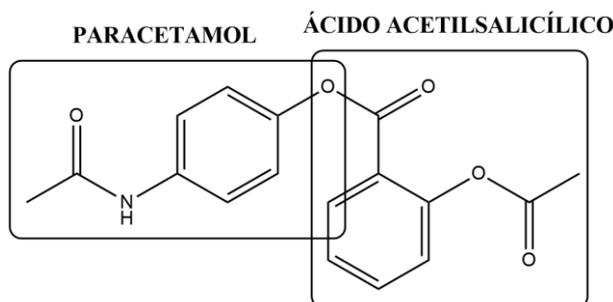
Fonte: Elaborado pela autora (2022).

3.9.3 Hibridização Molecular

A hibridização molecular é uma estratégia clássica de conjugação de estruturas de compostos bioativos distintos em uma única molécula, sendo uma alternativa eficaz de arquitetar racionalmente estruturas moleculares de novos compostos protótipos, que mantêm as características previamente selecionada dos compostos isolados, e normalmente demonstram aumento da atividade farmacológica, a exemplo do benorilato, um fármaco anti-inflamatório

obtido pela junção entre o paracetamol, e o cloreto do ácido acetilsalicílico (Figura 12) (FEIJÓ et al., 2017; ARAÚJO et al., 2015).

Figura 12 – Hibridização molecular no Benorilato.



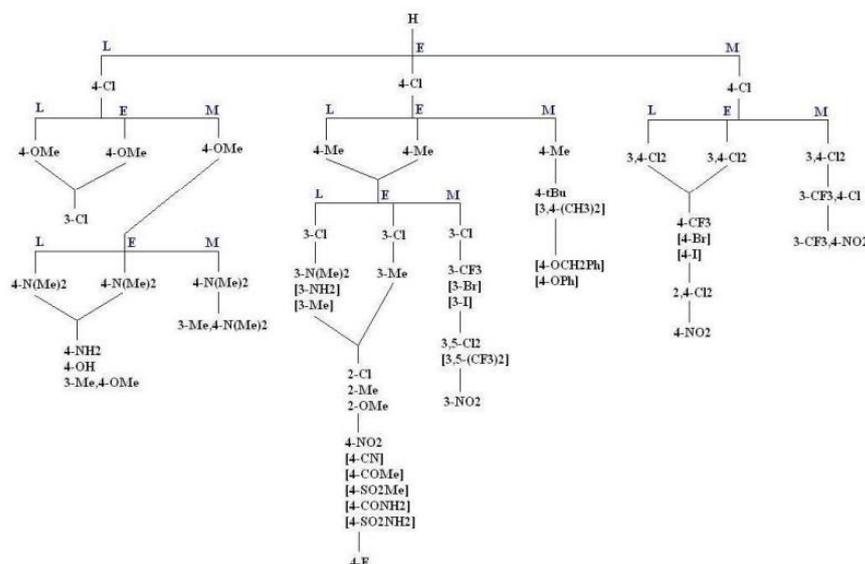
Fonte: Araújo et al. (2015), com adaptações.

3.9.4 Árvore de decisão de Topliss

A árvore de decisão de Topliss consiste em um modelo, baseado nos parâmetros hidrofóbico (π) e eletrônico (σ) que possuem os substituintes no anel aromático, usado para prever quais grupos podem ser introduzidos em determinada molécula para aumentar significativamente sua atividade biológica. Uma condição para a aplicação deste método é que a estrutura tenha um anel aromático (LAZZAROTTO, 2000).

O método consiste na utilização de uma chave para seleção dos análogos a serem sintetizados. A atividade de um análogo específico é comparada com a atividade do análogo que o precede na chave, permitindo que o número de compostos a ser sintetizado seja reduzido (Figura 13) (CHIARADIA, 2010).

Figura 13 - Árvore de Decisão de Topliss.



Fonte: Chiaradia (2010).

Legenda: M – mais ativo; E – igualmente ativo; L- menos ativo

Além das estratégias citadas até o momento, temos as ferramentas *in silico* que vem auxiliando no desenvolvimento de novos fármacos, pois suas aplicações ganham em tempo e custo o que favorece a entrada de novos fármacos no mercado.

3.10 Estratégias in silico.

3.10.1 Docking

A metodologia de *docking* molecular explora o comportamento de moléculas no sítio de ligação de uma proteína alvo, facilitando a previsão da orientação mais provável de interação do ligante ao receptor para formar um complexo estável. Com as estratégias de docking, a drogabilidade dos compostos e sua especificidade em relação a um alvo específico podem ser calculadas para futuros processos de otimização, já que essas informações são empregadas para prever a energia livre de ligação ($\Delta G = \text{kcal/mol}$), e a constante de inibição (K_i) desses complexos, ambos parâmetros que nos ajudam a determinar a afinidade da molécula pelo alvo (PAGADALA, SYED, & TUSZYNSKI, 2017; AGARWAL & MEHROTRA, 2016).

A energia livre de ligação é determinada usando alguns parâmetros eletrônicos da interação entre o ligante e o receptor, dentre eles, dispersão e repulsão, ligação de hidrogênio, dessolvatação, eletrostática, energia livre de torção, energia final interna total e energia do sistema não ligado, de modo que quanto menor for a energia livre de ligação, mais provável a interação (AGARWAL & MEHROTRA, 2016).

Um bom exemplo do uso bem-sucedido da metodologia de docking, foi o estudo realizado por Schames e colaboradores (2003), onde, considerando a flexibilidade do receptor através de dinâmica molecular, e utilizando o software AutoDock, foi descoberto um novo local de ligação para drogas anti-HIV. Outra prova do benefício da metodologia *in silico* foi a descoberta simultânea da mesma molécula com ação inibidora da quinase do receptor TGF- β (receptor beta do fator de crescimento transformador) do tipo I, de forma independente, através de triagem virtual, e triagem enzimática tradicional em células. A metodologia experimental exigiu uma grande triagem virtual de uma biblioteca de compostos, e ensaios baseados em células dependentes de TGF- β , o que exigiu muito mais tempo, e custou mais do que a abordagem computacional (SETHI, JOSHI, SASIKALA, & ALVALA, 2020).

3.10.2 Farmacocinética

Os dados de farmacocinética do fármaco interpretam as reações de absorção, distribuição, metabolização, excreção e toxicidade dele. A importância desse estudo se concentra no fato de que a fase farmacocinética pode ter profundo impacto sobre o efeito farmacológico, uma vez que os processos de ADME determinam a concentração e o tempo despendido das moléculas do fármaco no seu local de ação. Dessa forma, embora estudos da farmacodinâmica do fármaco sejam bem-sucedidos problemas farmacocinéticos dos compostos, como baixa biodisponibilidade, duração de ação (muito curta ou muito longa), ou a presença de metabólitos ativos, pode levar a testes clínicos mal-sucedidos, sendo o principal motivo para eliminação de um candidato a fármaco (PEREIRA, 2007).

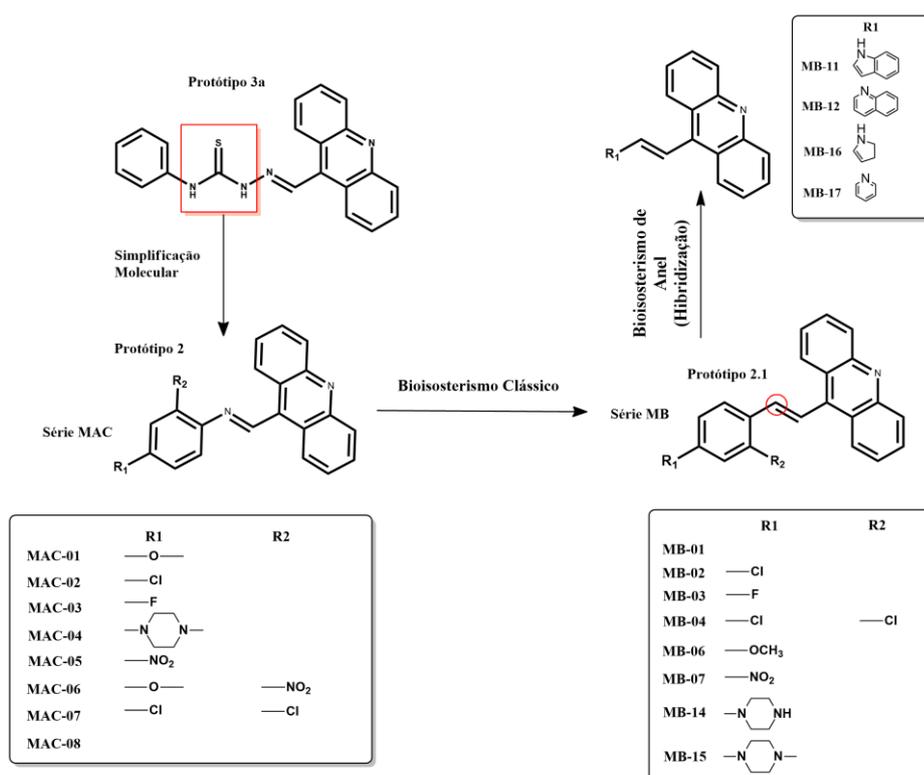
Dessa forma, os parâmetros farmacocinéticos foram estimados por softwares virtuais gratuitos, levando-se em conta os parâmetros considerados mais relevantes na escolha da molécula HIT.

4. METODOLOGIA

4.1 Planejamento dos derivados fenilmetanimino-acridínicos e 9-estiril-acridínicos

Os derivados fenilmetanimino-acridínicos foram planejados utilizando estratégias de FBDD e SBDD, a partir de uma simplificação molecular do derivado tiossemicarbazido-acridínico 3a, previamente sintetizado por Almeida e colaboradores (2015), e que demonstrou atividade antiproliferativa promissora em linhagens de células MCF-7 e PC-3. A proposta consiste na eliminação do grupamento tiossemicarbazida, levando ao derivado MAC-08 e em seguida, foram feitas diferentes substituições no anel benzênico, levando à formação dos outros compostos da série: MAC-01, MAC-02, MAC-03, MAC-04, MAC-05, MAC-06 e MAC-07. A ideia de baseia em avaliar a contribuição da porção tiossemicarbazida e as contribuições dos grupos substituintes para a interação com os alvos e o perfil farmacocinético. O planejamento dos derivados 9-estiril-acridínicos foi feito através de um bioisosterismo clássico e de anel, com a substituição do grupo imínico por um grupo vinílico, seguido por substituições no anel benzênico, e expansões, levando aos derivados da série MB, como representado na Figura 14.

Figura 14 - Planejamento molecular da série MAC e MB



Fonte: Elaborado pela autora (2022).

4.2 Docking Molecular

O *docking* molecular foi realizado com os derivados fenilmetanimino-acridínicos, 9-estiril-acridínicos, com seu precursor, o protótipo 3a, com o estradiol, e com o lasofoxifene. Inicialmente, as moléculas foram desenhadas no ChemDraw Ultra 12.0, e a minimização de energia, pelo método de mecânica molecular mínima, com o campo de força MM2, foi feito utilizando o Chem3D (ALLINGER, 1976). Em seguida, as estruturas do receptor de estrogênio β cristalizada com o ligante 4-hidroxitamoxifeno (PDB ID: 2FSZ) e do receptor de estrogênio α cristalizada com o ligante endoxifeno (PDB ID: 5W9D), foram obtidas do Protein Data Bank (PDB), e carregadas no PyMol para remoção de moléculas de água e ligantes co-cristalizados.

Posteriormente, os alvos foram carregados no software AutoDock Tools (HUEY & MORRIS, 2008), para a adição de hidrogênios e cargas de Gasteiger, além da mesclagem de hidrogênios não polares. Logo após, as simulações de docking foram feitas com a identificação do sítio ativo dos alvos, com os centros de grid, as dimensões e o espaçamento mostradas na tabela 1.

Tabela 1 - Parâmetros de docking para os alvos selecionados

PDB ID	Centro do Gridbox	Dimensões
5W9D	1.461, 51.987 e -20.029	40 x 40 x 40 Å
2FSZ	85.579, 10.436 e 23.106	40 x 40 x 40 Å

Fonte: Elaborado pela autora, 2022.

Para identificação do sítio ativo e realização dos cálculos do docking, foram gerados os mapas de energia eletrostática, afinidade atômica específica e desolvatação, representando as energias de interação entre os vários tipos de átomos do inibidor e os átomos de resíduos de aminoácidos no sítio ativo da enzima, usando o programa Autogrid 4.2 através do ADT.

Em seguida foram gerados os cálculos de interação utilizando o algoritmo genético Lamarckiano (LGA) (MORRIS, et al., 1998) para busca global e local nas simulações de docking, através do Autodock4.2 do ADT, gerando escore baseado na Energia Livre de Ligação (ΔG), além de simular uma Constante de Inibição Estimada (Ki). Os resultados do docking foram analisados através do programa Discovery Studio 2017 R2 Client (SINGH & JANA, 2017).

Visto que as estruturas cristalográficas do receptor de estrogênio α (PDB ID: 5W9D) e do receptor de estrogênio β (2FSZ), estão co-cristalizadas com os ligantes endoxifeno (9XY) e 4-hidroxitamoxifeno (OHT) (metabólitos ativos do tamoxifeno), respectivamente, foi realizada a redocagem como método de validação.

4.4 Perfil Farmacocinético in Silico

Para a análise farmacocinética dos compostos, foram feitas predições *in silico* de parâmetros relevantes de Absorção, Distribuição, Metabolismo e Eliminação, por meio dos serviços web SwissADME (DAINA, MICHIELIN, & ZOETE, 2017), pkCSM (PIRES, BLUNDELL, & ASCHER, 2015), ADMETlab 2.0 (XIONG, et al., 2021) e XenoSite (ZARETZKI et al., 2013). Dessa forma, foi possível estabelecer propriedades de lipofilicidade, drug-likeness, absorção intestinal, volume de distribuição, permeabilidade através da barreira hematoencefálica, metabolismo por CYP450 e clearance renal.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os derivados planejados foram baseados em fragmentos privilegiados acridínicos, quinolínicos e indólicos, levando-se em consideração o protótipo 3a, utilizando técnicas de simplificação, bioisosterismo e hibridização molecular, que deram origem às séries MAC e MB.

Com o intuito de avaliar o sucesso desse planejamento, foram realizados estudos de docking, de forma a selecionar os protótipos hit mais promissores para avaliação do perfil farmacocinético.

5.1 Docking molecular

O resultado do docking molecular é interpretado em termos da energia de ligação necessária para que a provável molécula bioativa se ligue ao sítio ativo do alvo molecular selecionado. Dessa forma, a molécula que apresentar menor quantidade de energia necessária para se ligar ao sítio ativo, será aquela que, teoricamente, apresentará melhor resultado de atividade biológica (BARROS, 2015).

A Tabela 2 descreve os resultados de docking dos derivados fenilmetanimino-acridínicos e 9-estiril-acridínicos, dos ligantes co-cristalizados 4-hidroxitamoxifeno e endoxifeno, do ligante endógeno estradiol, e do antagonista Lasofoxifeno para ambos os receptores.

Quando observamos a interação do ligante com o receptor em nível atômico, são os elétrons que estão envolvidos na formação de ligações covalentes ou não covalentes que vão nos ajudar a entender a força dessa interação. Foi possível identificar, através do docking molecular, que os receptores interagiram de diversas formas com os ligantes, sendo que as interações mais comuns foram as do tipo pi-alquila, pi-pi em forma de T e pi-enxofre, interações eletrostáticas do tipo dipolo-dipolo, além de interações do tipo pi-sigma, que ocorrem devido à sobreposição de orbitais atômicos pi e sigma, gerando interações de baixa energia. Além dessas, as ligações carbono-hidrogênio, interação do tipo dipolo-induzido, ligações de hidrogênio, ligações de halogênio e empilhamento amida-pi (dipolo-dipolo), e enxofre-x, uma interação entre um átomo de enxofre aniônico e um halogênio, em que o enxofre se comporta como um aceitador tão forte quanto o oxigênio, também estiveram presentes (BARREIRA E FRAGA, 2015; FOKOUE et al., 2020; HO E ANDERSON, 2021; FUKUI E FUJIMOTO, 1996).

Tabela 2 – Resultados de docking molecular em termos de energia de ligação ($\Delta G = \text{Kcal/mol}$) e Constante de Inibição (Ki).

Série MAC	5W9D		2FSZ		Série MB	5W9D		2FSZ	
Composto	ΔG	Ki	ΔG	Ki	Composto	ΔG	Ki	ΔG	Ki
Estradiol	-9.97	49.35 nM	-9.70	77.48 nM	MB-01	-10.11	38.98	-9.16	191.64
Endoxifeno	-13.78	78.83 pM	-	-	MB-02	-10.80	12.15 nM	-9.59	93.95 nM
OHT	-	-	-10.22	32.45 nM	MB-03	-10.32	27.17 nM	-9.64	85.60 nM
Lasofoxifeno	-14.80	14.12 pM	-12.37	851.26 nM	MB-04	-10.87	10.79 nM	-9.95	51.15 nM
3a	-10.89	10.38 nM	-10.50	19.97 nM	MB-06	-10.75	13.26 nM	-9.71	75.74 nM
MAC-01	-9.87	57.82 nM	-9.27	159.82 nM	MB-07	-9.40	128.02 nM	-8.65	453.18 nM
MAC-02	-9.84	61.36 nM	-8.76	380.13 nM	MB-11	-10.81	12.01 nM	-10.39	24.22 nM
MAC-03	-9.37	135.65 nM	-8.80	357.31 nM	MB-12	-10.95	9.41 nM	-10.22	32.01 nM
MAC-04	-11.20	6.18 nM	-9.88	57.05 nM	MB-14	-11.97	1.68 nM	-10.28	29.25 nM
MAC-05	-10.29	28.83 nM	-9.60	92.43 nM	MB-15	-11.46	3.96 nM	-10.15	36.58 nM
MAC-06	-9.25	165.88 nM	-8.60	497.66 nM	MB-16	-10.09	39.99 nM	-9.17	190.60 nM
MAC-07	-10.25	30.66 nM	-9.31	150.59 nM	MB-17	-10.17	34.94 nM	-9.30	153.39 nM
MAC-08	-9.66	83.25 nM	-8.85	323.77 nM					

Fonte: Elaborado pela autora (2022).

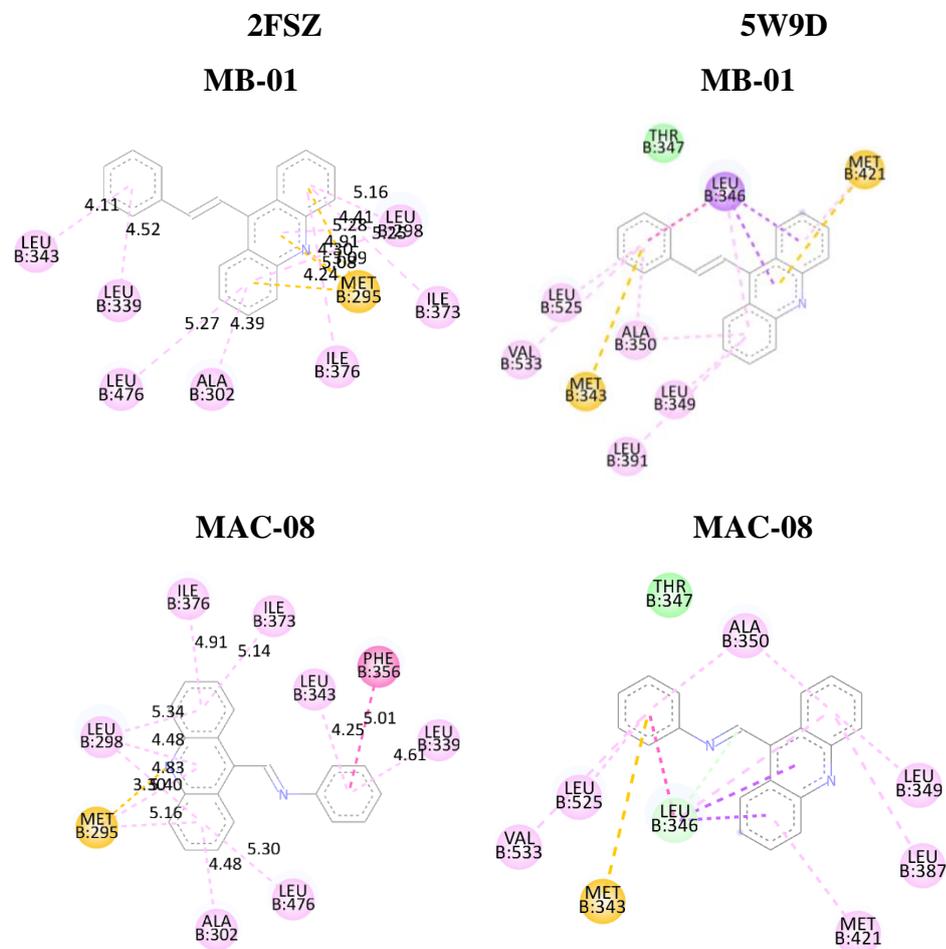
Legenda: nM = nanomolar; OHT = 4-hidroxitamoxifeno.

Para o receptor de estrogênio beta (2FSZ), quando observamos as interações do seu ligante endógeno estradiol com o alvo, e os padrões dos outros dockings realizados, percebemos uma sequência de pelo menos 5 aminoácidos em comum entre os ligantes dockados, com cada ligante interagindo com pelo menos 3 desses. São eles: Alanina 302, Leucina 298, Leucina 339, Leucina 343 e Fenilalanina 356. Também foi identificada uma ligação com a metionina 336, que para o estradiol, um agonista do receptor, é do tipo pi-alquila, mas para todos os outros ligantes antagonistas testados, é do tipo pi-enxofre. A interação do tipo pi-enxofre com a metionina 336 aparece no protótipo 3a, e em MAC-02, MB-15, MAC-04, MAC-06, MB-11 e MB-14, ela também está presente em MAC-07, mas se apresenta como pi-alquila. Sun e colaboradores (2003), concluíram que MET 336 em ER β , é amplamente responsável pela seletividade da diarilpropionitrila para o receptor, sendo, portanto, uma interação importante para o alvo.

Já para o alvo receptor de estrogênio alfa (5W9D), a sequência determinada de aminoácidos “essenciais” é Leucina 525, Leucina 384, Metionina 421, Leucina 346 e Alanina 350, com cada molécula interagindo com pelo menos 3 dentre os 5 aminoácidos. Outra sequência de aminoácidos que parece importante para a interação com esse alvo, e não aparece no ligante endógeno, mas sim no antagonista endoxifeno, é Asparagina 532, Valina 533, Treonina 347, Metionina 343 e 388, e Leucina 387. Pelo menos 2 desses 6 também estão presentes nas interações das moléculas planejadas.

De maneira geral as moléculas da série MB parecem ter sido capazes de atender aos requisitos estereoquímicos e eletrônicos de ambos os alvos de uma maneira melhor, com valores de energia de ligação menores. Se compararmos os dockings de MAC-08 e MB-01 (MAC-08: -8.85 kcal/mol; MB-01: -9.16 kcal/mol), os derivados não substituídos de cada série, as imagens mostram um padrão quase idêntico de ligações com aminoácidos, e embora a substituição do radical =CH- pelo =N- em MAC-08 tenha proporcionado a interação extra com o aminoácido fenilalanina 356, MB-01 obteve distâncias de interações menores, o que explica a melhor interação com o alvo 2FSZ. Para o alvo 5W9D (MAC-08: -9.66 kcal/mol; MB-01: -10.11 kcal/mol), a razão parece se concentrar no fato de que MB-01 obteve interações mais favoráveis com os aminoácidos leucina 346, com quem interagiu em uma ligação pi-sigma, ao invés da interação carbono-hidrogênio de MAC-08, e metionina 421 (pi-enxofre, ao invés de pi-alquil) (Figura 15).

Figura 15 – Dockings das moléculas MB-01 e MAC-08 para os alvos 2FSZ e 5W9D e distâncias em Å.



Fonte: Imagens geradas pelo software Discovery Studio (2022).

Legenda: Rosa claro – Pi-alquila; Laranja – Pi-enxofre; Verde – Van der waals; Azul-claro:Carbono-hidrogênio; Rosa-escuro: empilhamento pi-pi em forma de t

Ao compararmos os dockings dos derivados com substituições de halogênios, -Cl em MAC-02 e MB-02, e -F em MAC-03 e MB-03, observamos que as moléculas com a substituição do cloro obtiveram melhores resultados de interação com o receptor 5W9D (em relação a MAC-03 e MB-03) (MAC-02: -9.84; MB-02: -10.80; MAC-03: -9.37; MB-03: -10.32 kcal/mol), enquanto as moléculas com Flúor se saíram melhor no receptor 2FSZ (em relação a MAC-02 e MB-02) (MAC-02: -8.76; MB-02: -9.59; MAC-03: -9.37; MB-03: -9.64 kcal/mol). Assim, suas interações com cada receptor precisam ser analisadas individualmente.

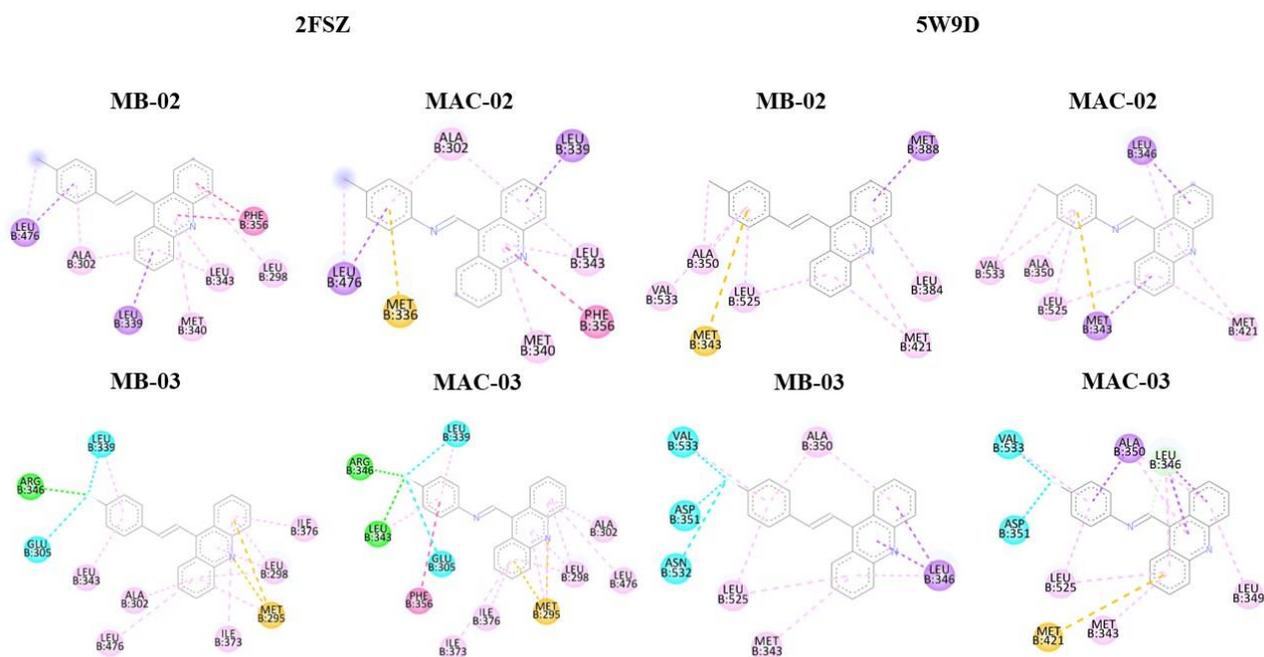
Embora MAC-03 e MB-03 tenham sido capazes, devido à presença do átomo de flúor, de estabelecer ligações de hidrogênio e de halogênio, para o receptor 5W9D em específico, isso

não parece ser tão relevante. Primeiramente, as ligações de halogênio não apresentam uma influência energética significativa, já que são do tipo dipolo-dipolo, assim como as interações pi-alquila, e embora a ligação de hidrogênio tenha bastante influência energética, a afinidade dos ligantes com o receptor parece estar mais associada à sequência de aminoácidos Asparagina 532, Valina 533, Treonina 347, Metionina 343 e 388, e Leucina 387, citados anteriormente. Por exemplo, o ligante endógeno estradiol (Apêndice B), possui duas interações do tipo ligação de hidrogênio com o receptor, mas seu valor de energia de ligação é inferior aos antagonistas sintéticos do receptor, e a várias das moléculas planejadas, todos os quais possuem ligação com algum dos aminoácidos dessa sequência. Valina 533 e Metionina 343 são os aminoácidos com os quais MAC-02, MAC-03, MB-02 e MB-03 interagem em comum, e a partir da avaliação das interações das outras moléculas da série com VAL 533 e MET 343, é possível estabelecer que as ligações pi-alquila parecem ser mais favoráveis para o aminoácido VAL 533, enquanto MET 343 parece estabelecer interações melhores com ligações do tipo pi-enxofre, padrões para as outras moléculas planejadas que interagem com esses (Figura 16).

Em relação à maior afinidade da série MB com o alvo em relação à série MAC, isso também pode ser explicado utilizando a mesma sequência de aminoácidos anterior. MB-02 interage com MET 343 através de uma interação pi-enxofre, versus pi-sigma de MAC-02. Enquanto MB-03 interage com um aminoácido extra da sequência, ASN 532, interagindo melhor com o receptor em relação a MAC-03 (Figura 16).

Quanto ao receptor 2FSZ, MAC-03 e MB-03 exibiram menor energia de ligação com o receptor pelo fato de interagirem com uma sequência de aminoácidos muito maior, MAC-03 (10 interações) e MB-03 (11 interações), em relação à MAC-02 e MB-02, com 7 interações cada. Isso também explica a melhor energia de ligação de MB-03 com o alvo em relação a MAC-03, já que possui mais interações. A melhor interação de MB-02 com o alvo em relação a MAC-02 parece estar associada ao fato de que interage com toda a sequência de aminoácidos “essenciais” (aminoácidos em comum com o ligante endógeno) do alvo, que são 5, enquanto MAC-02 interage com apenas 4 (não interage com a LEU 339) (Figura 16).

Figura 16 - Dockings das moléculas MB-02, MAC-02, MB-03 e MAC-03 para os alvos 2FSZ e 5W9D.



Fonte: Imagens geradas pelo software Discovery Studio (2022).

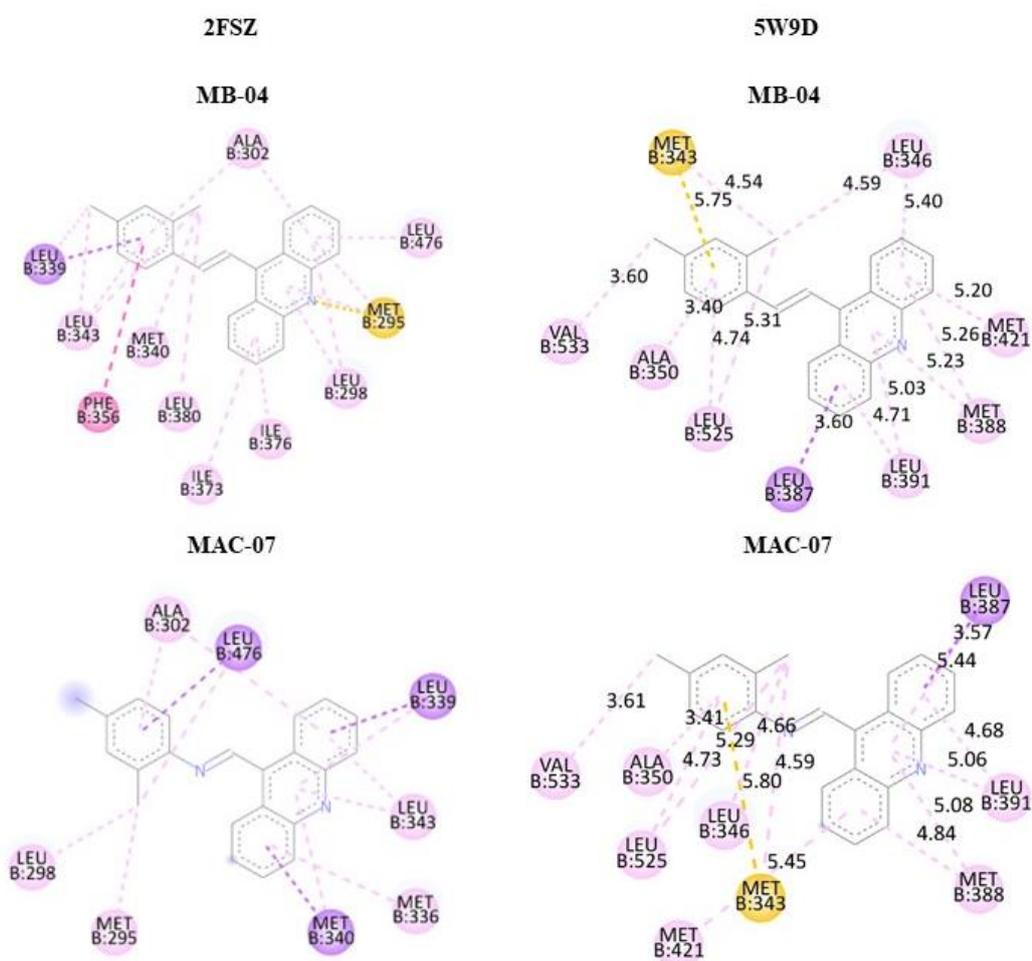
Legenda: Rosa claro: Pi-álquila; Laranja: Pi-enxofre; Verde: Ligação de hidrogênio; Azul-claro: Carbono-hidrogênio; Azul: ligação de halogênio; Rosa-escuro: empilhamento pi-pi em forma de t. Roxo: pi-sigma.

É importante destacar que os substituintes -Cl e -F são bioisómeros não clássicos do -H, o que significa que esses átomos têm propriedades físico-químicas e biológicas em comum, assim, as moléculas 02 e 03 de cada série foram planejadas, seguindo a árvore de decisão de toplless, com o objetivo de aumentar a potência do protótipo não substituído da série. Sabemos que a sequência crescente de eletronegatividade é $H < Cl < F$, no entanto, esse aspecto eletrônico dos substituintes não parece ser tão relevante para a interação com nenhum dos receptores, já que não houve uma relação crescente ou decrescente clara entre a afinidade das moléculas, e a troca pelo substituinte mais ou menos eletronegativo. Assim, a modificação bioisostérica parece ter sido mais bem sucedida com os derivados da série MB, na qual MB-02 e 03 obtiveram melhores resultados de energia de ligação com ambos os receptores. De fato, as substituições (por -F e -Cl) na série MAC foram desfavoráveis à interação com 2FSZ e 5W9D, já que, exceto por MAC-02 em 5W9D, todas as moléculas substituídas (substituições -Cl e -F) apresentaram menor afinidade com os alvos. É possível que diferenças entre o grupo vinílico da série MB, e o radical imínico na série MAC, tenham implicação nessas interações desfavoráveis.

Os derivados com dupla substituição de Cloro, MB-04 e MAC-07 apresentaram bons resultados de energia de ligação para ambos os receptores. Para 5W9D (MB-04: -10.87; MAC-07: -10.25 kcal/mol) o sucesso de ambas as moléculas está relacionado com a interação de

ambos com 3 dos aminoácidos tidos como importantes para a afinidade com o receptor (ALA 350, LEU 525 e MET 421), sendo que MB-04 possui distâncias de interação menores. Já em 2FSZ (MB-04: -9.95; MAC-07: -9.31 kcal/mol) as afinidades parecem estar associadas a dois fatores diferentes, MB-04 interage com pelo menos 11 aminoácidos do sítio de ligação do alvo, justificando sua baixa energia de ligação, para MAC-07 a afinidade parece estar ligada à sua interação com o resíduo de aminoácido Metionina 336. É válido destacar que essa interação é do tipo pi-alquil, assim como no estradiol, o que pode indicar que MAC-07 tem ação agonista dos receptores (Figura 17).

Figura 17 - Dockings das moléculas MB-04 e MAC-07 para os alvos 2FSZ e 5W9D e distâncias em Å.



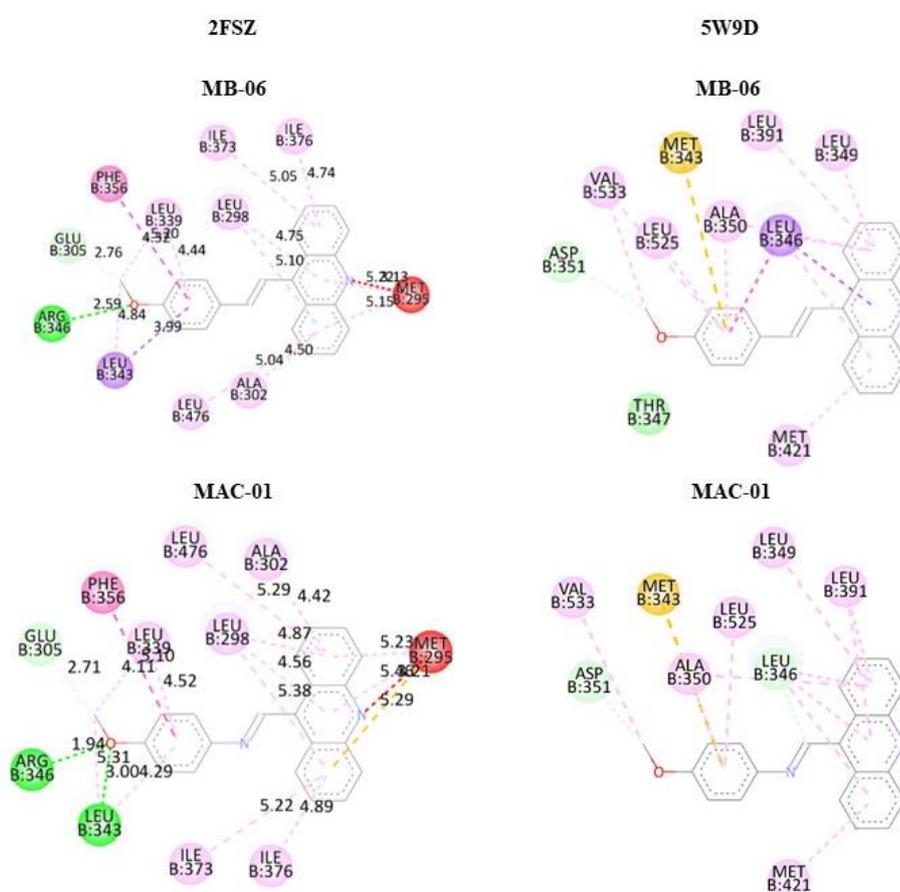
Fonte: Imagens geradas pelo software Discovery Studio (2022).

Legenda: Rosa claro: Pi-alquila; Laranja: Pi-enxofre; Roxo: pi-sigma.

MB-06 e MAC-01 tiveram um -H de seu anel substituído por uma metoxila, o que foi favorável para a interação com ambos os receptores. Ambas as moléculas interagem através de

uma ligação enxofre-x com o aminoácido metionina 295 no receptor 2FSZ, além de outros 10 resíduos de aminoácidos, o que favorece a afinidade com o alvo. A melhor interação de MB-06 com o alvo, em relação a MAC-01 (MB-06: -9.71; MAC-01: -9.27 kcal/mol), parece estar relacionada às menores distâncias de ligação com os resíduos de aminoácidos Leucina 476, interação que compartilham com o protótipo 3a, e as isoleucinas 373 e 376, interações que compartilham com os antagonistas lasofoxifeno e 4-hidroxitamoxifeno, respectivamente. Para o alvo 5W9D (MB-06: -10.75; MAC-01: --9.87 kcal/mol), a maior afinidade de MB-06 está associada com o fato de que esta interage com 4 dos aminoácidos principais da série (MET 421, ALA 350, LEU 525 e THR 347), contra 2 interações (ALA 350 e LEU 525) de MAC-01, como demonstrado na Figura 18.

Figura 18 - Dockings das moléculas MB-06 e MAC-01 para os alvos 2FSZ e 5W9D e distâncias em Å.



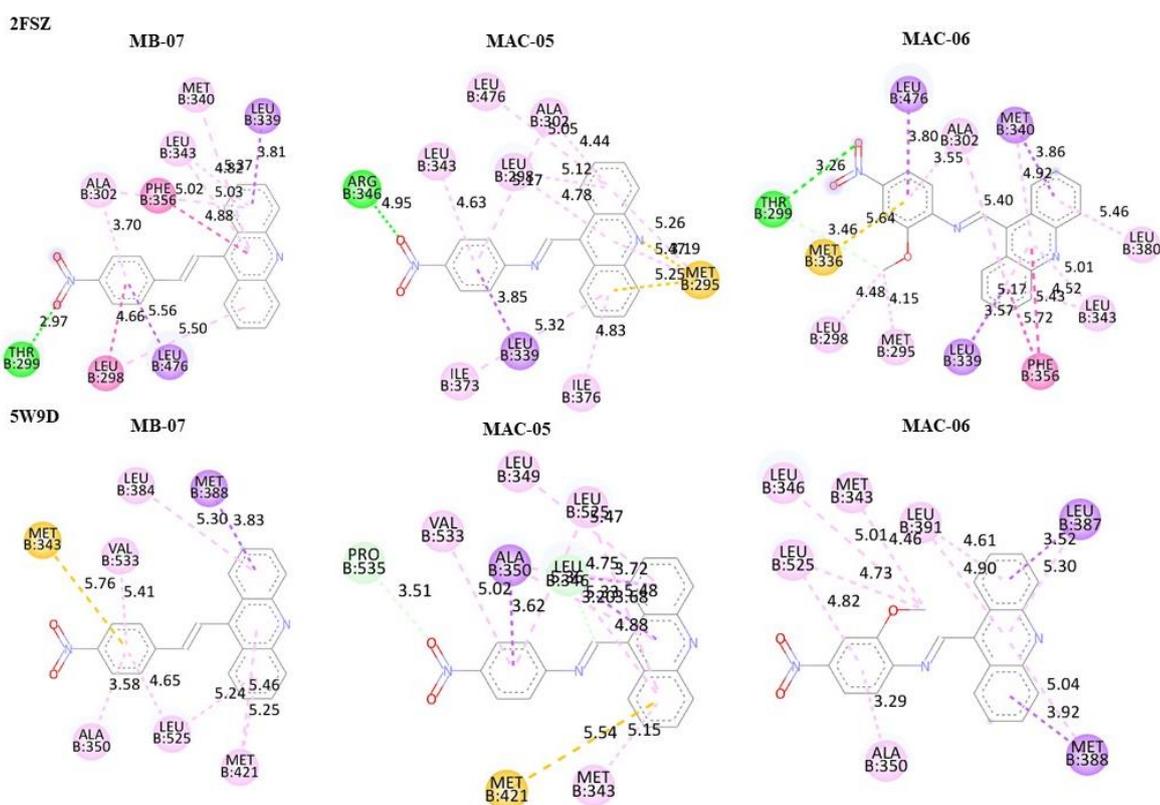
Fonte: Imagens geradas pelo software Discovery Studio (2022).

Legenda: Rosa claro: Pi-alquilar; Laranja: Pi-enxofre; Roxo: pi-sigma; Rosa-escuro: empilhamento pi-pi em forma de t; Verde: Ligação de Hidrogênio; Azul-claro: Carbono-hidrogênio; Verde-claro: Van der Waals; Vermelho: Enxofre-x.

A adição do substituinte NO₂ em MB-07 e MAC-05 provocou resultados completamente opostos nos derivados. Enquanto a adição em MAC foi relativamente positiva para a interação com os alvos, MB-07 exibiu a menor atividade entre todas as moléculas da série, incluindo o derivado não substituído MB-01. Além disso, MAC-06, que possui um substituinte NO₂ e um grupo metoxila, bastante semelhante a MAC-05, também exibiu uma energia de ligação bastante inferior à MAC-05.

Os bons resultados de MAC-05 são mais simples de explicar. Em 2FSZ (MAC-05: -9.60 kcal/mol) ela interage com Leucina 476, interação que compartilha com 3a, isoleucina 376 e arginina 346 (ligação de hidrogênio), comum com o 4OHT, isoleucina 373, do lasofoxifeno, além da metionina 295, interação em comum com o estradiol. Dentre esses, MAC-06 e MB-07 (MAC-06: -8.60; MB-07: -8.65 kcal/mol) não compartilham as interações com ARG 346, e ILE 373 e 376, além de possuírem ligações consideravelmente mais distantes com LEU 476 (3.80 Å MAC-05; 5.05 MAC-06; 5.56 MB-07), ALA 302, LEU 298, LEU 339 e LEU 343, como visto na Figura 19.

Figura 19 - Dockings das moléculas MB-07, MAC-05 e MAC-06 para os alvos 2FSZ e 5W9D e distâncias em Å.

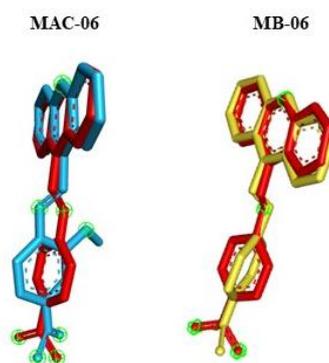


Fonte: Imagens geradas pelo software Discovery Studio (2022).

Legenda: Rosa claro: Pi-alquila; Laranja: Pi-enxofre; Roxo: pi-sigma; Rosa-escuro: empilhamento pi-pi em forma de t; Verde: Ligação de Hidrogênio; Azul-claro: Carbono-hidrogênio.

A ausência dessas interações, além da maior distância entre elas, é causada pela posição de MB-07 e MAC-06 no receptor em relação a MAC-05. É possível observar que a adição do grupo metoxila (MAC-06), assim como a ausência da amina (MB-07), provocou rotação do anel benzênico, assim como do grupamento $-NO_2$, no posicionamento com o receptor, o que prejudicou sua interação (Figura 20).

Figura 20 – Sobreposição de MAC-05 (vermelho), MAC-06 (azul) e MB-07 (amarelo) no alvo 2FSZ.



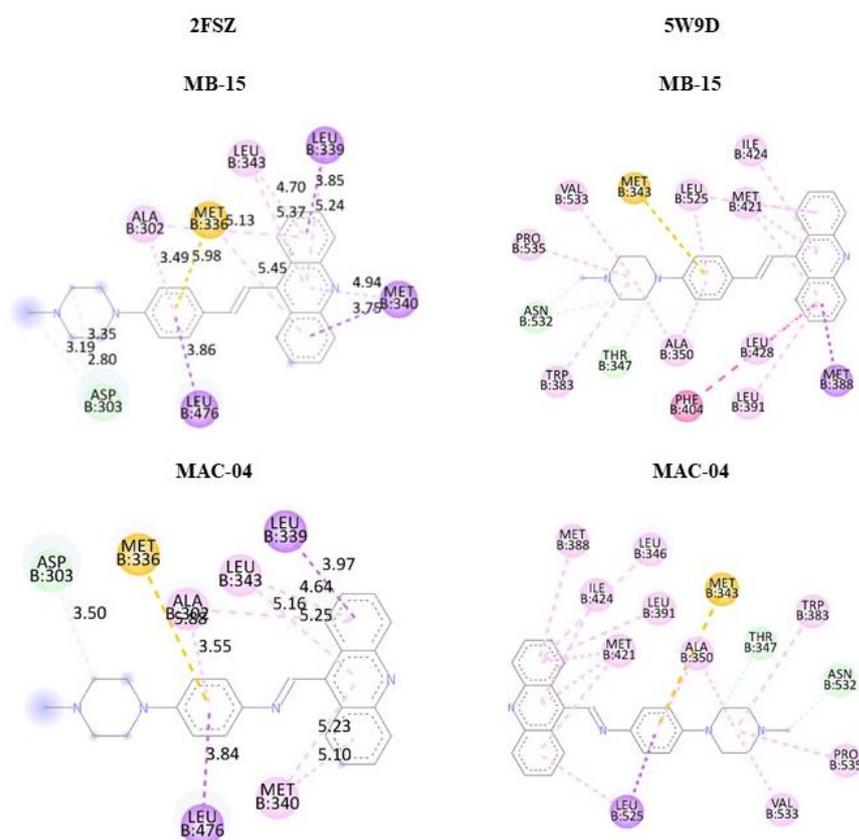
Fonte: Imagens geradas pelo software Discovery Studio (2022).

Com 5W9D (MAC-05: -10.29 kcal/mol), além dos aminoácidos essenciais para o receptor, MAC-05 interage também com prolina 535, em comum com o lasofoxifeno. Nem MAC-06 nem MB-07 (MAC-06: -9.25 ; MB-07: -9.40 kcal/mol) foram capazes de interagir com PRO 535, e sua interação com MET 343 é mais distante em relação a MAC-05, além de possuírem menos ligações com o alvo (Figura 19).

O anel piperazínico com um substituinte $-CH_3$ foi o substituinte escolhido para as moléculas MAC-04 e MB-15 e as transformou em duas das moléculas mais promissoras em ambas as séries. Em 5W9D (MAC-04: -11.20 ; MB-15: -11.46 kcal/mol) ambas as moléculas interagem com 8 aminoácidos essenciais para a série (ALA 350, LEU 525, MET 421, ASN 532, THR 347, VAL 533, MET 343 e 388), sendo que 3 dessas interações são feitas com o anel piperazínico, além de apresentarem duas interações em comum com o lasofoxifeno. MB-15 especificamente interage com fenilalanina 304, interação que compartilha com o estradiol, o que explica sua maior afinidade ao ligante.

Para 2FSZ (MAC-04: -9.88 ; MB-15: -10.15 kcal/mol), a afinidade é resultante da interação de ambas as moléculas com a metionina 336, mencionada anteriormente. É importante destacar que ambas as moléculas interagem com o MET 336 através de uma ligação pi-enxofre, o que parece indicar uma atividade antagonista para os receptores. As distâncias de interação para MB-15 são menores, o que justifica sua maior afinidade, como visualizado na Figura 21.

Figura 21 - Dockings das moléculas MB-15 e MAC-04 para os alvos 2FSZ e 5W9D e distâncias em Å.



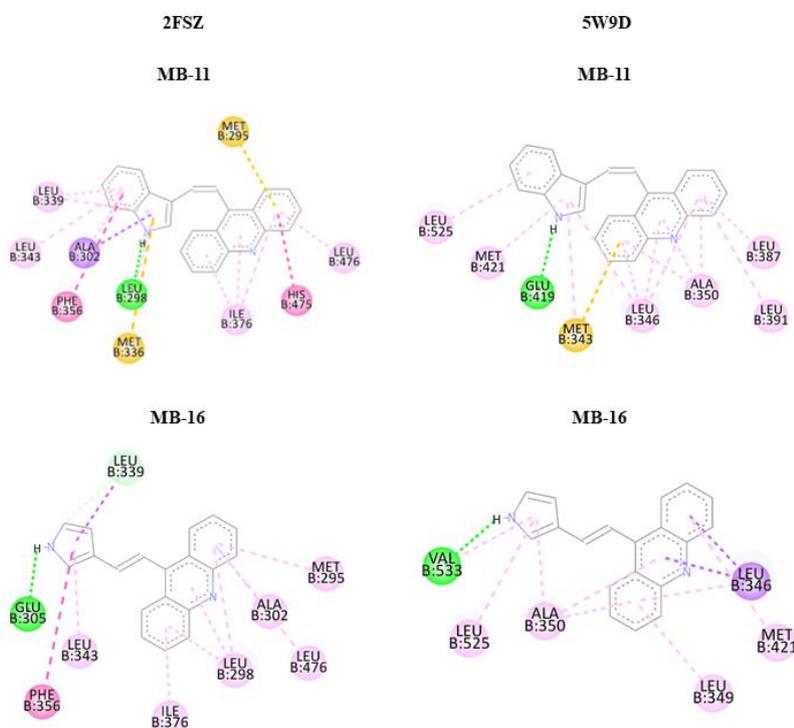
Fonte: Imagens geradas pelo software Discovery Studio (2022).

Legenda: Rosa claro: Pi-alquila; Laranja: Pi-enxofre; Roxo: pi-sigma; Rosa-escuro: empilhamento pi-pi em forma de t; Azul-claro: Carbono-hidrogênio.

O planejamento de MB-11 foi feito por meio de hibridização molecular com adição do núcleo indol ao derivado acridínico. Para avaliar a importância do núcleo para a interação, MB-16 foi planejada a partir de MB-11 com a retirada do anel benzênico, permanecendo apenas o anel pirrol. A ausência do anel benzênico levou MB-16 a exibir um desempenho de interação com o alvo inferior ao derivado não substituído da série, enquanto MB-11 esteve entre as moléculas mais bem sucedidas para ambos os receptores, considerando as imagens de docking, os posicionamentos gerados pelos núcleos indol e pirrol levaram a interações com aminoácidos diferentes. Em 5W9D (MB 11: -10.81; MB-16: -10.09 kcal/mol), MB-11 exibe 4 interações (MET 343, ALA 350, LEU 346, LEU 525) com os aminoácidos essenciais da série, além de uma interação extra com leucina 391, em comum com o lasofoxifeno, que não está presente em MB-16. Para 2FSZ (MB 11: -10.39; MB-16: -9.17 kcal/mol), a presença do núcleo indólico

em MB-11 permitiu a interação da molécula com o aminoácido MET 336 (pi-enxofre), importante para o alvo, enquanto MB-16 não foi capaz de interagir com o resíduo (Figura 22).

Figura 22 - Dockings das moléculas MB-11 e MB-16 para os alvos 2FSZ e 5W9D.

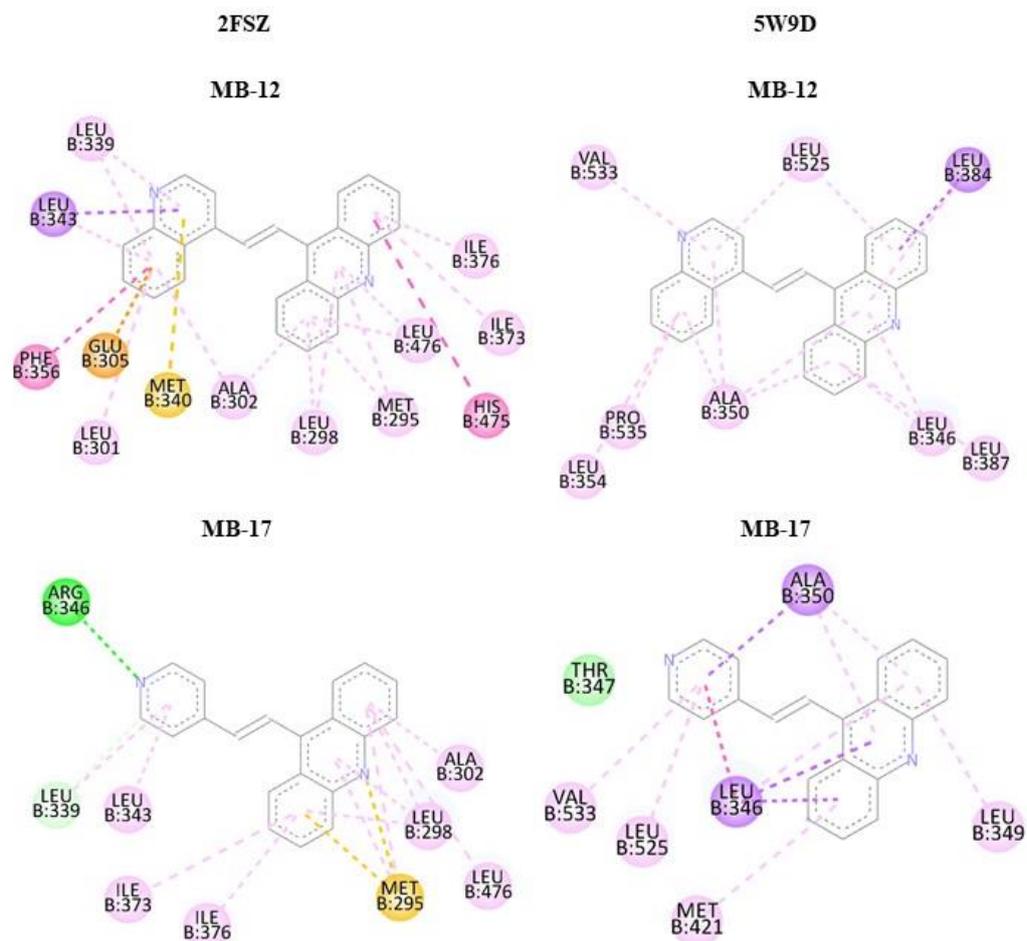


Fonte: Imagens geradas pelo software Discovery Studio (2022).

Legenda: Rosa claro: Pi-alkila; Laranja: Pi-enxofre; Roxo: pi-sigma; Rosa-escuro: empilhamento pi-pi em forma de t; Azul-claro: Carbono-hidrogênio; Verde: Ligação de hidrogênio.

Já a hibridização de MB-12 foi feita através da junção do núcleo quinolínico aos derivados acridínicos. MB-17 também foi planejada para avaliar a importância do anel benzênico do núcleo para interação com o alvo. Na interação com 2FSZ (MB 12: -10.22; MB-17: -9.30 kcal/mol), a retirada do anel benzênico, com permanência unicamente do anel piridínico, provocou a perda, de forma direta ou indireta, de 5 interações com o receptor, incluindo leucina 339, fenilalanina 356, glutamina 305, leucina 301 e histidina 475, o que explica a diferença entre a energia de ligação de MB-12 e MB-17 com o alvo. Em 5W9D (MB 12: -10.95; MB-17: -10.17 kcal/mol), a retirada do anel benzênico provocou perda de uma interação com o alvo. Além disso, MB-12 também exibiu uma interação com leucina 354 (lasofoxifeno), que MB-17 não foi capaz de estabelecer como visto na Figura 23.

Figura 23 - Dockings das moléculas MB-12 e MB-17 para os alvos 2FSZ e 5W9D.



Fonte: Imagens geradas pelo software Discovery Studio (2022).

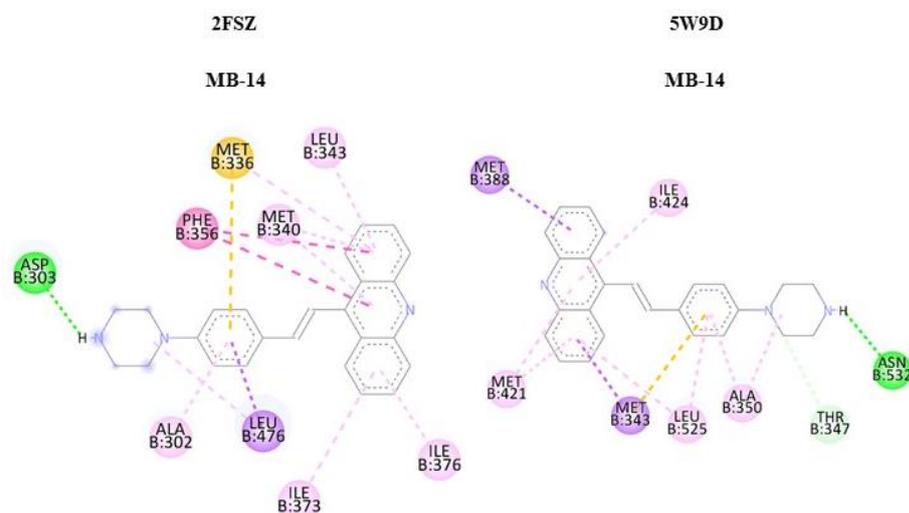
Legenda: Rosa claro: Pi-alquila; Laranja: Pi-enxofre; Laranja-escuro: pi-ânion; Roxo: pi-sigma; Rosa-escuro: empilhamento pi-pi em forma de t; verde-claro: Van der Waals; Verde: Ligação de hidrogênio.

Dessa forma, a hibridização do núcleo acridínico com os núcleos quinolínico e indólico foi bem-sucedida e gerou candidatos com um excelente grau de afinidade pelo receptor. A simplificação desses núcleos, no entanto, com permanência do anel pirrol (MB-16) e piridina (MB-17) levou à perda da estabilidade do complexo ligante receptor, obtendo maiores energias de ligação. Quando comparamos os ΔG obtidos por MB-16 e MB-17, notamos, no entanto, que MB-17 ainda possui uma interação melhor com o receptor quando comparado ao protótipo não substituído da série, MB-01, o mesmo não pode ser dito de MB-16. Portanto, podemos dizer que são mais favoráveis à interação com o receptor os seguintes anéis em ordem crescente Pirrol < Benzeno < Piridina.

Por fim nós temos MB-14, em que a substituição do anel benzênico é um anel piperazínico não substituído, bastante similar a MB-15. A não substituição de -H no anel piperazínico permitiu a MB-14 (MB-14: -10.28 kcal/mol) o estabelecimento de 3 novas ligações com 2FSZ, quando comparada a MB-15, com destaque para a ligação de hidrogênio

estabelecida com o aminoácido aspartato 303, interação que compartilha com o lasofoxifeno, além de sua interação pi-enxofre com MET 336, o que explica a boa previsão para sua interação com o receptor. Em 5W9D (MB-14: -11.97 kcal/mol), a ótima energia de ligação de MB-14 pode estar associada à sua capacidade de estabelecer com asparagina 532, um dos aminoácidos essenciais, uma ligação de hidrogênio (Figura 24).

Figura 24 - Docking da molécula MB-14 para os alvos 2FSZ e 5W9D.



Fonte: Imagens geradas pelo software Discovery Studio (2022).

Legenda: Rosa claro: Pi-alquila; Laranja: Pi-enxofre; Roxo: pi-sigma; Rosa-escuro: empilhamento pi-pi em forma de t; Verde: Ligação de hidrogênio; Azul-claro: Carbono-hidrogênio.

A simplificação molecular do protótipo 3a foi em geral bem-sucedida. Embora nenhuma das moléculas das séries derivadas tenha sido capaz de superar a energia de ligação estabelecida por 3a com o receptor 2FSZ, MB-11 e 14 obtiveram resultados bastante próximos, e que superam a energia de ligação do estradiol e do 4OHT. Já em 5W9D, MAC-04 e MB-12, 14 e 15 obtiveram melhores resultados de energia de ligação com o receptor quando comparados ao derivado 3a. Sendo essas, portanto, consideradas as moléculas mais promissoras em relação ao perfil dinâmico.

5.2 Perfil Farmacocinético

Baseado nos resultados de docking, foram selecionadas 7 moléculas mais promissoras, sendo 3 da série MAC e 4 da série MB, para predição e análise das propriedades farmacocinéticas. São elas: MAC 04, 05 e 07, e MB 11, 12, 14 e 15. Idealmente, as propriedades farmacodinâmicas como potência, afinidade e seletividade, além de propriedades

farmacocinéticas devem ser consideradas conjuntamente, facilitando a eliminação de candidatos com propriedades inadequadas, e direcionando para a escolha da melhor molécula hit (GUIDO & ANDRICOPULO, 2008).

5.2.1 Absorção, Distribuição, Excreção e Toxicidade.

Para determinar a molécula com melhores características farmacocinéticas, foram considerados dados de absorção, distribuição, metabolização, toxicidade e eliminação. A Tabela 3 reúne os dados considerados relevantes para nosso estudo das moléculas planejadas, do protótipo do qual elas se originaram, e do antagonista 4-hidroxitamoxifeno, que será usado como referência de droga comercial.

O *drug-likeness* (DL) informado na tabela foi calculado pelo software ADMETlab, considerando propriedades como massa molecular, log P, número de doadores e receptores de hidrogênio, número de ligações rotacionais, número de anéis aromáticos, e grupos funcionais considerados indesejáveis. Compostos com pontuações mais altas segundo essa medição, são considerados mais atraentes quanto a seu perfil farmacocinético (BICKERTON, PAOLINI, BESNARD, MURESAN, & HOPKINS, 2012). As regras de Lipinski, Ghose, Veber, Egan e Muegge também consideram parâmetros que são mais favoráveis para uma boa farmacocinética da droga. Aqui, usaremos como referência o DL de 4-OHT, considerando que é uma droga comercial conhecida e destinada aos nossos alvos.

O log de P é um padrão de medição da capacidade do fármaco de permear a membrana, e se ligar hidrofobicamente a moléculas, incluindo o receptor alvo, bem como outras proteínas como proteínas plasmáticas, transportadores ou enzimas metabolizadoras. Calculado pelo logaritmo do coeficiente n-octanol/água, é uma medição importante para determinar a farmacocinética de um fármaco. Os fármacos hidrofóbicos com altos coeficientes de partição são distribuídos preferencialmente em compartimentos hidrofóbicos, como as bicamadas lipídicas das células, enquanto os fármacos hidrofílicos (baixos coeficientes de partição) localizam-se preferencialmente em compartimentos hidrofílicos, como o plasma sanguíneo (KUJAWSKI, 2012).

Tabela 3 – Dados de farmacocinética das moléculas com afinidade mais promissoras, do protótipo 3^a, e do antagonista 4-OHT.

	MAC-04	MAC-05	MAC-07	MB-11	MB-12	MB-14	MB-15	3a	4OHT
DL	0.375	0.229	0.301	0.395	0.365	0.520	0.450	0.242	0.503
Log P	5,45	4,64	6,52	5,27	5,81	5,39	5,77	5,39	5,38
Lipinski	Não	Sim	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não
Ghose	Sim	Sim	Não	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
Veber	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
Egan	Sim	Sim	Não	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
Muegge	Sim	Sim	Não	Sim	Sim	Não	Sim	Sim	Sim
AI	98.67%	97.43%	95,68%	98,67%	100%	98,21%	98,18%	90,18%	93,54%
SgP	Sim	Sim	Não	Sim	Sim	Sim	Não	Sim	Sim
IgP	Sim	Sim	Sim	Sim	Não	Sim	Sim	Sim	Sim
VD (L/Kg)	2.88	0.796	1.777	2.88	1.409	1.665	3.017	1.458	1.745
LPP	96,37%	98,8%	99,15%	96,37%	98,62%	95,25%	96,62%	99,3%	95,62%
PBH	Sim	Sim	Não	Sim	Sim	Sim	Sim	Não	Sim
Clearance (ml/min/kg)	4.503	2.364	3.120	4.503	2.487	3.460	4.523	1.181	10.083
HT	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Não

Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Legenda: DL: drug-likeness; AI: Absorção intestinal; SgP: Substrato da glicoproteína P; IgP: Inibidor da glicoproteína P; VD: volume de distribuição; LPP: ligação às proteínas plasmáticas; PBH: Permeação da barreira hematoencefálica; HT: hepatotóxico.

Os valores ideais de log P apresentam-se entre 1 e 5. Valores abaixo de 1 representam baixa lipofilicidade e, portanto, baixa capacidade de atravessar as membranas celulares. Quando os valores se apresentam acima de 5, isto representa uma alta capacidade da molécula de apresentar toxicidade, além de baixa hidrossolubilidade (KUJAWSKI et al., 2012; SANTOS et al., 2018). Embora todas as moléculas tenham apresentado coeficientes de partição considerados altos, tomando por referência o valor apresentado pelo 4-OHT, MAC-05, e MB-11 e 14 apresentaram resultados satisfatórios, e que não necessariamente indicam toxicidade iminente.

As informações sobre absorção intestinal, volume de distribuição, ligação a proteínas plasmáticas e clearance, nos ajudam a determinar se a droga permanecerá no organismo por tempo suficiente para exercer sua função. Considerando os logs de P indicativos de um caráter mais lipofílico dessas moléculas, a boa absorção dessas moléculas já é esperada.

O volume de distribuição (Vd) é uma medição da concentração inicial do fármaco na corrente sanguínea. O único propósito deste parâmetro é relacionar a quantidade (Kg) e a concentração do fármaco no corpo em um determinado momento. Quanto maior o valor de Vd, maior é a extensão em que a droga é distribuída nos tecidos do corpo, órgãos ou ambos. Além disso, como os tecidos do corpo, as membranas biológicas e os órgãos são de natureza lipofílica, o valor de V está correlacionado com a lipofilicidade do fármaco, com valores ideais entre 0.04-20 kg/L. (LEMKE, WILLIAMS, ROCHE, & ZITO, 2013).

Uma proporção das moléculas do fármaco que chegam ao plasma liga-se às proteínas plasmáticas através de interações reversíveis, com as moléculas de fármaco livre e ligado estabelecendo um equilíbrio dinâmico no corpo. A ligação a proteínas plasmáticas (LPP) pode ser prejudicial ou auxiliar para os fármacos, já que como as proteínas plasmáticas não podem deixar os capilares, a proporção do fármaco ligado a essas proteínas também fica confinada, sendo incapaz de atingir seu alvo, mas fármacos ligados à proteínas também estão protegidos contra a metabolização e excreção, o que significa que esses podem ter tempos de meia-vida mais longos, exercendo seu efeito por mais tempo (THOMAS, 2007).

A depuração (Clearance) é o volume de sangue em uma região definida do corpo que é depurado de um medicamento em unidade de tempo. Por exemplo, o clearance renal é o volume de sangue que passa pelo rim, e que é “livrado” do fármaco, em unidade de tempo. Em outras palavras, a depuração é o parâmetro que relaciona a taxa de eliminação de um fármaco de uma região definida do corpo, com a concentração plasmática desse fármaco. A depuração de fármacos lipofílicos ocorre por metabolismo hepático (clearance hepática ou hepatobiliar),

enquanto os hidrofílicos são substratos de depuração renal (clearance renal) (LIMA, 2015; THOMAS, 2007). Resultados menores do que 5 ml/min/kg são considerados baixos, embora esses não sejam dados considerados ruins. É possível que o baixo clearance das moléculas esteja relacionado à sua alta LPP

A existência da barreira hematoencefálica (BHE) torna possível projetar medicamentos que irão atuar em várias partes do corpo (por exemplo, o coração) e não ter atividade no cérebro, reduzindo assim quaisquer efeitos colaterais do sistema nervoso central (SNC). No entanto, considerando a hidrofobicidade da camada protetora, fármacos lipofílicos, como as moléculas planejadas, são capazes de cruzá-la, o que pode levar a efeitos colaterais indesejados (PATRICK, 2015). Embora todos os protótipos tenham sido capazes de atravessar a BHE, essa característica também está presente no fármaco comercial 4OHT, e provavelmente não vai interferir negativamente em testes subsequentes.

A glicoproteína-P (Pgp) é um tipo de glicoproteína cuja presença está relacionada a expressão do gene MDR1 em mamíferos, e é responsável pelo efluxo celular de diversas drogas, gerando resistência múltipla. As glicoproteína-P são as mais importantes e conhecidas como promotoras do efluxo de quimioterápicos. Alguns fármacos atuam como substrato dessa proteína, e são transportados por ela, enquanto outros (ou os mesmos), atuam como inibidores, e são capazes de se ligar a ela bloqueando o transporte dos fármacos para fora da célula (HUBER, MARUIAMA, & ALMEIDA, 2010). Dessa forma, é importante destacar que MAC-07 e MB-15 apresentaram uma característica desejável em moléculas, elas não são substrato da Pgp, mas inibem a ação da glicoproteína, podendo, além de atuar separadamente, serem associadas a outros antineoplásicos para combater esse mecanismo de resistência.

5.2.2 Metabolismo

O metabolismo de fármacos compreende o conjunto de reações enzimáticas que biotransformam fármacos e outros compostos xenobióticos em metabólitos mais polares, para que sejam excretados pela urina, impedindo que estes compostos permaneçam por tempo indefinido no nosso organismo. As reações metabólicas são divididas em fase 1 (oxidação, redução e hidrólise) e fase 2 (conjugação). Os produtos de degradação (metabólitos), por sua vez, podem ser inativos ou ativos (PEREIRA, 2007).

Quanto às enzimas envolvidas nesse metabolismo, a análise da natureza dos complexos enzimáticos envolvidos no metabolismo de fase 1 revela o predomínio de enzimas oxidativas, entre as quais a superfamília de hemoproteínas citocromo P450. A CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1 e CYP3A4, em conjunto, correspondem a cerca de 90% do metabolismo oxidativo dos fármacos disponíveis no mercado farmacêutico mundial. Dessa

forma, um fármaco que seja capaz de inibir a ação dessas proteínas, tem chances maiores de causar um evento de interação medicamentosa e toxicidade, já que pode interferir no metabolismo de outros fármacos que sejam usados pelo paciente (Tabela 4) (LIMA, 2015).

Conforme mostrado na Tabela 4, as moléculas inibem pelo menos 3 dentre as 7 hemoproteínas essenciais para o metabolismo, em que MB-14 atuou como inibidor em 6 delas, o que indica altas chances de interação medicamentosa com outros fármacos. MB-15, no entanto, apresentou o menor número de inibições, apenas 3.

Tabela 4 – Dados de metabolismo das moléculas planejadas com hemeoproteínas da CYP450.

Molécula	CYP2D6		CYP3A4		CYP1A2		CYP2C19		CYP2C9		CYP2D6		CYP3A4	
	I	S	I	S	I	S	I	S	I	S	I	S	I	S
MAC-04	Não	Sim	Não	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Não	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
MAC-05	Não	Não	Não	Sim	Sim	Não	Sim	Não	Sim	Sim	Não	Sim	Sim	Não
MAC-07	Não	Não	Não	Sim	Sim	Não	Sim	Não	Sim	Sim	Sim	Sim	Não	Não
MB-11	Não	Não	Não	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Não	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
MB-12	Sim	Sim	Sim	Não	Sim	Não	Sim	Não	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Não
MB-14	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Não	Não	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
MB-15	Não	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Não	Sim	Não	Sim	Não	Sim	Sim	Sim
3a	Não	Sim	Sim	Não	Sim	Não	Sim	Não	Não	Sim	Não	Sim	Sim	Não
4OHT	Sim	Sim	Não	Sim	Sim	Sim	Não	Sim	Não	Sim	Sim	Sim	Não	Sim

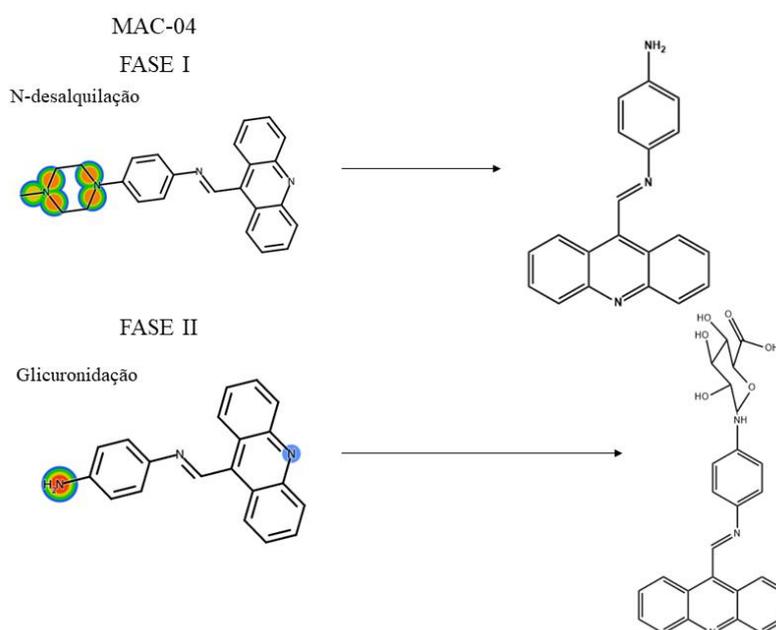
Fonte: Elaborado pela autora (2022).

Legenda: I: inibidor; S: Substrato.

A previsão do Xenosite foi utilizada para determinar os possíveis pontos para metabolismo de Fase I e Fase II das moléculas, com as zonas azul-escuras, verde e vermelha indicando a possibilidade crescente do metabolismo ocorrer naquele ponto. A principal reação de metabolismo de primeira fase prevista foi a N-desalquilação, um tipo de reação de oxidação que ocorre com moléculas que possuem carbonos alfa-heteroátomos ligados ao enxofre, oxigênio ou nitrogênio, culminando na perda do grupo alquila ligado ao nitrogênio, ela esteve presente em MAC-04, e MB-14 e 15, além da epoxidação sofrida por MB-11 e MB-12. Outra reação de oxidação presente foi a de MAC-07, na qual a oxidação da ligação insaturada do grupamento imina provoca a quebra da dupla ligação, e adição de uma hidroxila. A reação metabólica de redução sofrida por MAC-05 promove modificação na estrutura do substrato por adição de hidrogênio em sistemas contendo duplas ligações, catalisando a redução do grupo nitro ao metabólito amina (LIMA, 2015).

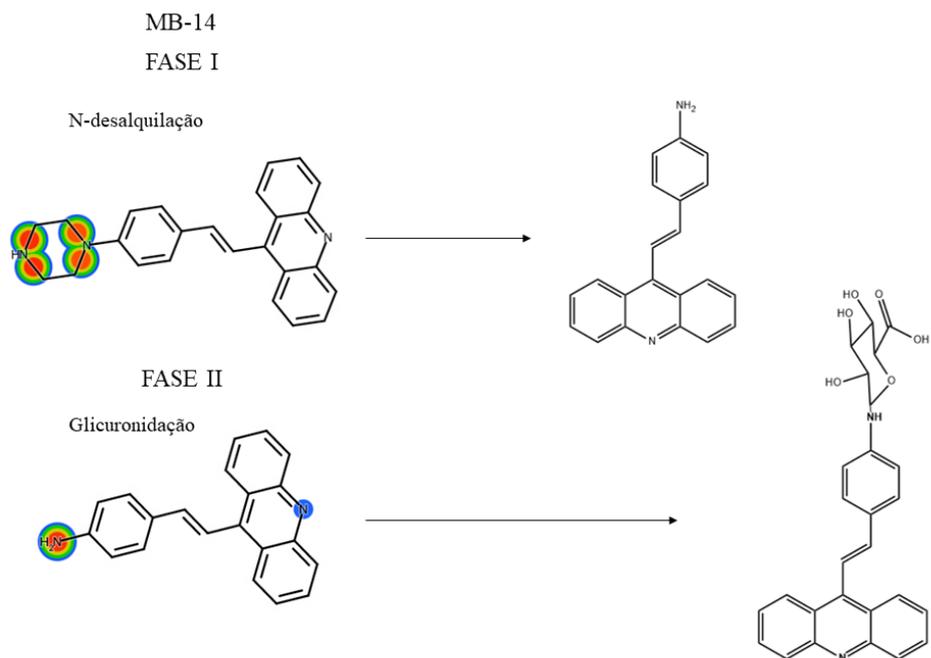
Reações de fase II, como dito anteriormente, são reações de conjugação, o que significa que elas ocorrem de formar a conjugar, através de catalise enzimática, uma molécula endógena de elevada polaridade ao fármaco, originando conjugados mais hidrossolúveis, que são excretados na urina. Para essas moléculas, as reações ocorridas foram as de glicuronidação e conjugação com a glutatona (LIMA, 2015).

Figura 25 – Pontos de metabolismo e possível metabólito de MAC-04.



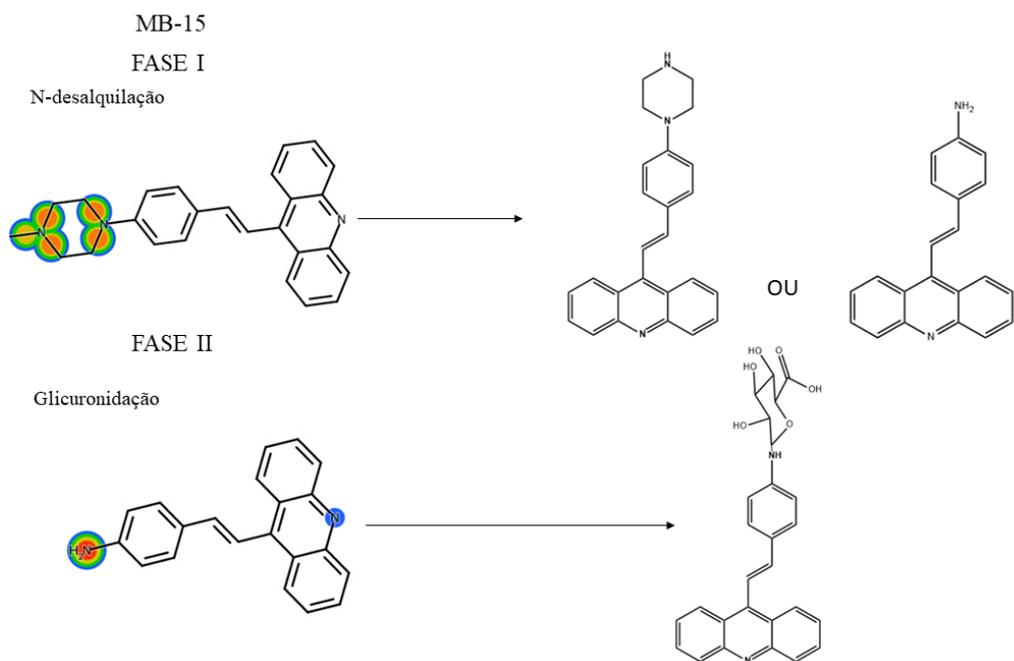
Fonte: Imagens geradas pelo software Xenosite e Chemdrawn (2022).

Figura 26 – Pontos de metabolismo e possíveis metabólitos de MB-14.



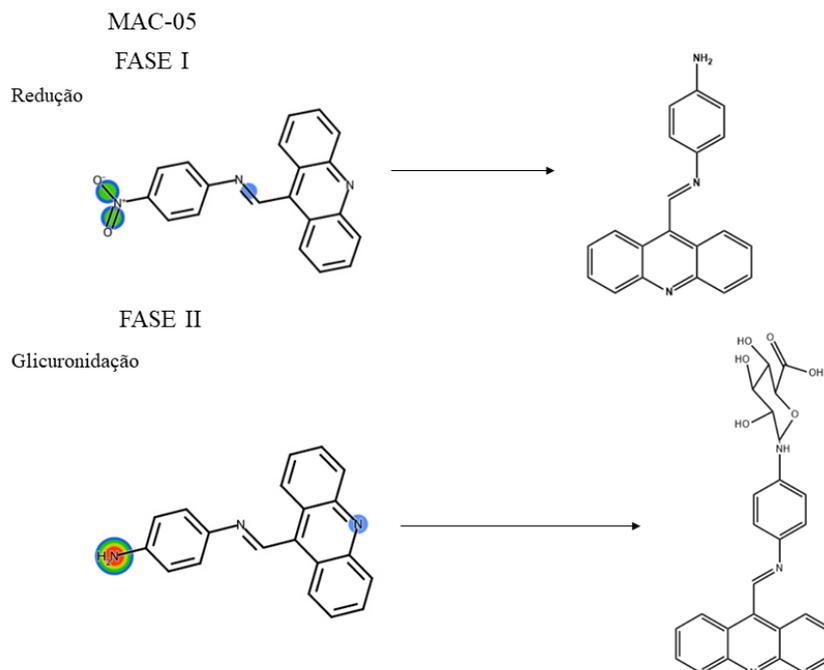
Fonte: Imagens geradas pelo software Xenosite e Chemdrawn (2022).

Figura 27 – Pontos de metabolismo e possíveis metabólitos de MB-15.



Fonte: Imagens geradas pelo software Xenosite e Chemdrawn (2022).

Figura 28 - Pontos de metabolismo e possíveis metabólito de MAC-05.

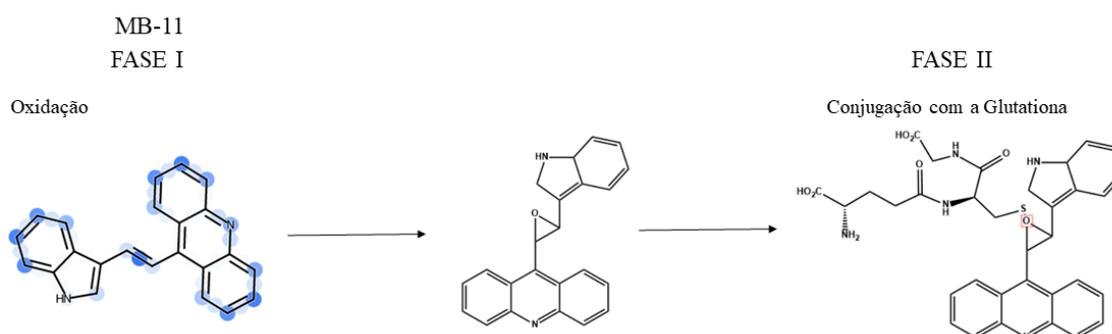


Fonte: Imagens geradas pelo software Xenosite e Chemdrawn (2022).

As imagens 25, 26, 27 e 28 descrevem as rotas metabólicas de MAC-04 e 05, além de MB-14 e 15, através das reações de N-desalquilação e redução. Os metabólitos principais foram submetidos ao software ADMET Lab, e os resultados indicaram melhores valores de Clearance, o que faz sentido devido à maior hidrofiliabilidade dos compostos, e demonstraram chances grandes de apresentarem efeito carcinogênico. É válido destacar que MB-15 provavelmente sofre N-desalquilação no carbono 29 (carbono extra) primeiro, dessa forma gerando outro metabólito ativo, MB-14.

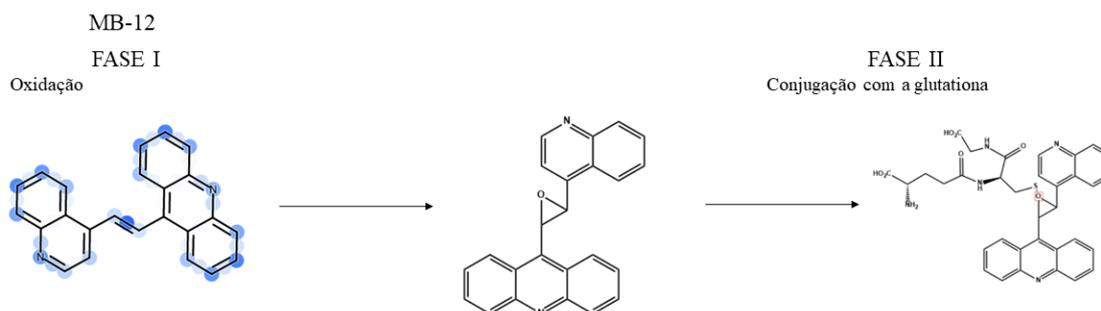
MB-11 e MB-12 por outro lado, vão sofrer reação de epoxidação, o que gera metabólitos tóxicos e reativos, seguida por conjugação com a glutatona, como representado pelas figuras 29 e 30.

Figura 29 - Pontos de metabolismo e possíveis metabólitos de MB-11.



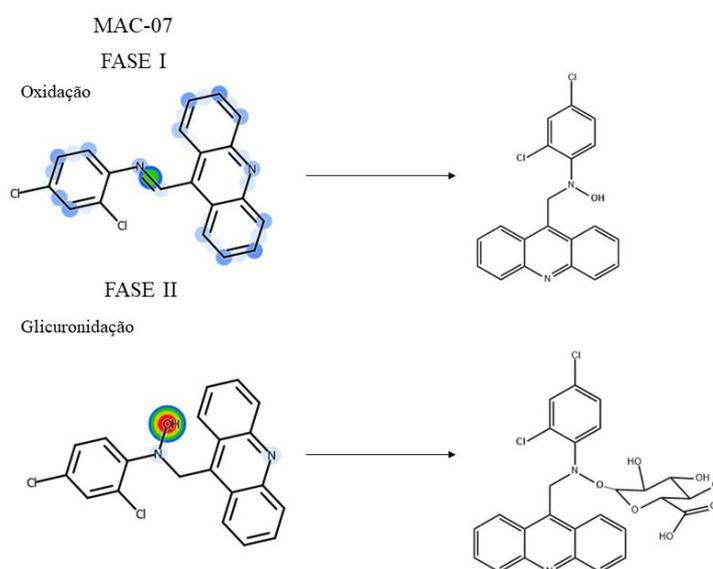
Fonte: Imagens geradas pelo software Xenosite e Chemdrawn (2022).

Figura 30 - Pontos de metabolismo e possíveis metabólitos de MB-12.



Fonte: Imagens geradas pelo software Xenosite e Chemdrawn (2022).

Figura 31 - Pontos de metabolismo e possíveis metabólitos de MAC-07.



Fonte: Imagens geradas pelo software Xenosite e Chemdrawn (2022).

Como pode ser visto na Figura 31, MAC-07 o metabolismo de 1ª fase de MAC-07 também foi responsável pelo desenvolvimento de um metabólito tóxico, embora aparentemente menos tóxico em relação aos anteriores, segundo a pontuação dada pelo ADMETlab 2.0.

Portanto, considerando os dados analisados, MB-15 foi a molécula com melhores parâmetros farmacocinéticos previstos, apresentando uma boa classificação de drug-likeness, um Log de P adequado, e respeitando 4 das 5 regras apresentadas, indicando que a estrutura apresenta características desejáveis para uma boa farmacocinética. Quanto aos outros parâmetros de absorção, distribuição e eliminação, MB-15 apresentou uma alta absorção intestinal, e um volume de distribuição considerado adequado. Embora a molécula tenha uma grande proporção ligada às proteínas plasmáticas, como citado anteriormente, esse pode ser um fator positivo de maior permanência do fármaco no corpo, e que também explica o clearance

considerado baixo. A maior desvantagem apresentada pela molécula, que aliás esteve presente em todas as moléculas planejadas, foi a hepatotoxicidade prevista, possivelmente devido ao seu metabólito secundário considerado tóxico. No entanto, pacientes em tratamento quimioterápico normalmente são acompanhados de forma próxima e através de exames bioquímicos. Portanto, uma possível hepatite medicamentosa poderia ser evitada ou tratada a tempo. A penetração pela barreira hematoencefálica pode gerar efeitos indesejados, mas talvez uma estratégia de planejamento capaz de diminuir o Log de P dessa molécula sem alterar sua farmacodinâmica, seja capaz de eliminar essa característica.

6. CONCLUSÃO

Uma molécula HIT precisa exibir características farmacodinâmicas e farmacocinéticas igualmente adequadas. Por exemplo, embora a força de ligação ao receptor seja importante para garantir a interação e ação do fármaco, sem exibir características farmacocinéticas desejáveis, o fármaco pode não ser bem absorvido, ou se tornar tóxico ao não ser eliminado.

Portanto, considerando os dados de docking molecular e farmacocinética das moléculas, MB-15 apresentou as características mais adequadas para uma molécula HIT. Além de uma energia de ligação que indica uma estabilidade do complexo ligante-receptor, ela apresentou um valor de ΔG superior ao protótipo originário da série, 3a, e do ligante endógeno estradiol.

Quanto aos parâmetros farmacocinéticos, apresentou uma boa pontuação de drug-likeness, além de parâmetros de absorção e distribuição bastante semelhantes ao do 4-hidroxitamoxifeno. No que diz respeito ao metabolismo, inibiu somente 3 dentre as 7 principais hemoproteínas da CYP450, o que indica uma chance menor de interação com outros fármacos.

Embora não tenha se saído tão bem quando MB-15, MAC-07 apresentou um bom perfil farmacodinâmico, e um perfil farmacocinético adequado, e apesar de apresentar um Log de P extremamente lipofílico, é a única molécula testada que não apresentou chances de atravessar a barreira hematoencefálica. Considerando isso, e o fato de que pode exercer ação agonista nos receptores, podemos considerá-la uma molécula promissora para continuação dos estudos.

Assim, podemos considerar que a simplificação molecular do protótipo 3a gerou moléculas com capacidade de formar complexos estáveis com os receptores escolhidos, e que apresentaram características farmacocinéticas melhoradas. Assim, a presença do radical tiossemicarbazida não foi considerada essencial para a interação com os receptores, e a estratégia de planejamento foi bem-sucedida.

REFERÊNCIAS

- ABATE-SHEN, C., & SHEN, M. M. Molecular genetics of prostate cancer. **Genes and Development**, p. 2410-2434, 2000. doi:10.1101/gad.819500
- AGARWAL, S., & MEHROTRA, R. An overview of Molecular Docking. **JSM Chemistry**, n. 4, v.2 , 2016.
- ALBINO, S. L. **Planejamento, Síntese e Avaliação do perfil quimioterápico de derivados tiosemicarbazônicos hibridizados a núcleos heterocíclicos**. 2020. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas)-Universidade Estadual da Paraíba.
- ALLINGER, N. L. Calculation of Molecular Structure and Energy by Force-Field Methods. **Advances in Physical Organic Chemistry**, n.13, p. 1-82, 1976.
doi:[https://doi.org/10.1016/S0065-3160\(08\)60212-9](https://doi.org/10.1016/S0065-3160(08)60212-9)
- ALMEIDA, S. M., LAFAYETTE, E. A., SILVA, L. P., AMORIM, C. A., OLIVEIRA, T. B., RUIZ, A. L., JUNIOR, L. B. Synthesis, DNA Binding, and Antiproliferative Activity of Novel Acridine-Thiosemicarbazone Derivatives. **International Journal of Molecular Sciences**, n. 16, p. 13023-13042, 2015. doi:10.3390/ijms160613023
- ANOTHASINTAWEE, T., WIRATKAPUN, C., LERDSITTHICHAI, P., KASAMESUP, V., WONGWAISAYAWAN, S., SRINAKARIN, J., THAKKINSTIAN, A. Risk factors of breast cancer: a systematic review and meta-analysis. **Asia-Pacific Journal of Public Health**, p. 368-387, 2013. doi:10.1177/1010539513488795
- ARAÚJO, C. R., FILHO, C. A., SANTOS, V. L., MAIA, G. L., & GONSALVES, A. A. Desenvolvimento de fármacos por hibridização molecular: uma aula prática de química medicinal usando comprimidos de paracetamol e sulfazadina e a ferramenta virt SciFinder. **Química Nova**, n. 38, v. 6, 2015. doi:<https://doi.org/10.5935/0100-4042.20150053>
- ARNAL, J., LENFANT, F., METIVIER, R., FLOURIOT, G., HENRION, D., ADLANMERINI, M., KATZENELLENBOGEN, J. Membrane and Nuclear Estrogen

Receptor Alpha Actions: From Tissue Specificity to Medical Implications. **Physiological Review**, n. 97, v. 3, p. 1045-1087, 2017. doi:<https://doi.org/10.1152/physrev.00024.2016>

BAKER, M. E., & LATHE, R. The promiscuous estrogen receptor: Evolution of physiological estrogens. **Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, n. 184, p. 29-37, 2018. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2018.07.001>

BARREIRO, E. J. Estratégia de simplificação molecular no planejamento racional de fármacos: a descoberta de novo agente cardioativo. **Química Nova**, n. 25, 2002. doi:<https://doi.org/10.1590/S0100-40422002000700018>

BARREIRO, E. J., & FRAGA, C. A. Aspectos Gerais da Ação dos Fármacos. Em BARREIRO E. J., & FRAGA C. A. **Química Medicinal: as bases moleculares da ação dos fármacos**. Artmed, 2015. p.(19)-(57).

BARROS, M. E. **Estudos de Docking Molecular, Síntese e Atividade Biológica de Análogos da Massoialactona e da Combretastina A-4**. 2015. Tese (Doutorado)-Universidade Federal de Pernambuco, 2015.

BERNARDES, N. B., SÁ, A. C., FACIOLI, L. S., FERREIRA, M. L., R., S. O., & COSTA, R. M. Câncer de Mama X Diagnóstico. **Revista Multidisciplinar e de Psicologia**, n. 13, p. 877-885, 2019.

BIAN, C., ZHU, H., ZHAO, Y., CAI, W., & ZHANG, J. Intriguing Roles of Hippocampus-Synthesized 17β -Estradiol in the Modulation of Hippocampal Synaptic Plasticity. **Journal of Molecular Neuroscience**, n. 54, p. 271-281, 2014. doi:<https://doi.org/10.1007/s12031-014-0285-8>

BICKERTON, G. R., PAOLINI, G. V., BESNARD, J., MURESAN, S., & HOPKINS, A. L. Quantifying the chemical beauty of drugs. **Nature Chemistry**, p. 90-98, 2012. doi:<https://doi.org/10.1038/nchem.1243>

BONKHOFF, H. Estrogen receptor signaling in prostate cancer: Implications for carcinogenesis and tumor progression. **The Prostate**, n. 78, v. 1, p. 02-10, 2017. doi:<https://doi.org/10.1002/pros.23446>

CARRUBA, G. Estrogens and Mechanism of Prostate Cancer Progression. **Annals of the New York Academy of Sciences**, p. 201-217, 2006.

CHEN, R., HOU, L., JAISWAL, Y., HUANG, J., ZHONG, Z., ZHONG, J., YAN, Z. Design, Synthesis, Antimicrobial, and Anticancer Activities of Acridine Thiosemicarbazides Derivatives. **Molecules**, n. 24, v. 11, 2019. doi:[doi:10.3390/molecules24112065](https://doi.org/10.3390/molecules24112065)

CHESKIS, B. J., GREGER, J. G., NAGPAL, S., & FREEDMAN, L. P. Signaling by estrogens. **Journal of Cellular Physiology**, n. 213, v.13, p. 610-617, 2007. doi:<https://doi.org/10.1002/jcp.21253>

CHIARADIA, L. D. **Síntese, caracterização e estudo da relação estrutura-atividade de chalconas e de compostos heterocíclicos biologicamente ativos em doenças negligenciadas, hiperglicemia e leucemia**. 2010. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, 2010.

CHRISTOFOROU, P., & CHRISTOPOULOS, P. F. The Role of Estrogen Receptor β in Prostate Cancer. **Molecular Medicine**, n. 20, p. 427-434, 2014. doi:<https://doi.org/10.2119/molmed.2014.00105>

COOKE, P. S., NANJAPPA, M. K., KO, C., PRINS, G. S., & HESS, R. A. Estrogens in male physiology. **Physiological Reviews**, n. 97, v. 3, p. 995-1043, 2017. doi:<https://doi.org/10.1152/physrev.00018.2016>

COSTA, A. H. **Análise energética in silico da interação do ER α com estrogênios relacionados a neoplasia mamária: estradiol e dietilestradiol**. 2020. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

DAI, X., XIANG, L., & BAI, Z. Cancer Hallmarks, Biomarkers and Breast Cancer Molecular Subtypes. **Journal of Cancer**, n. 10, p. 1281-1294, 2016. doi:[10.7150/jca.13141](https://doi.org/10.7150/jca.13141)

DAINA, A., MICHIELIN, O., & ZOETE, V. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medical chemistry friendliness of small molecules. **Scientific Reports**, n. 7, v. 1, 2017.

DEMEUNYNCK, M., CHARMANTRAY, F., & MARTELLI, A. Interest of Acridine Derivatives in the Anticancer Chemotherapy. **Current Pharmaceutical Design**, n. 7, v. 17, p. 1703-1724, 2001. doi:<https://doi.org/10.2174/1381612013397131>

DENNY, W. A. Chemotherapeutic Effects of Acridine Derivatives. **Medicinal Chemistry Reviews**, n. 1, p. 257-266, 2004.

DIEDRICH, D. **Síntese e avaliação da atividade biológica de derivados quinolínicos**. 2018. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas), 2018.

FEIJÓ, R. M., LÓCIO, L. L., ALBINO, S. A., DANTAS, R. S., & MOURA, R. O. Aplicação da Hibridização Molecular como Ferramenta de Planejamento de Novos Fármacos. Em: Congresso Brasileiro De Ciências Da Saúde, II, 2017. **Anais**.

FILHO, F. A., SOUZA, T. F., RIBEIRO, A. G., ALVES, J. E., OLIVEIRA, J. F., SOUZA, T. R., ALMEIDA, S. M. Topoisomerase inhibition and albumin interaction studies of acridine-thiosemicarbazone derivatives. **International Journal of Biological Macromolecules**, n. 138, p. 582-589, 2019.

FOKOUÉ, H. H., PINHEIRO, P. S., FRAGA, C. A., & SANT'ANNA, C. M.. Há Algo Novo No Reconhecimento Molecular Aplicado À Química Medicinal? **Química Nova**, n. 43, v. 1, 2020. doi:<https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170474>

FUKUI, K., & FUJIMOTO, H. (1966). Sigma-pi interaction Accompanied by Stereoselection. **Bulletin of the Chemical Society of Japan**, n. 10, p. 2116-2126.

GENSICKA-KOWALEWSKA, M., CHOLEWINLI, G., & DZIERZBICKA, K. Recent developments in the synthesis and biological activity of acridine/acridone analogues. **RSC Advances**, n. 7, p. 15776-15804, 2017. doi:10.1039/C7RA01026E

GOUVEIA, R. G., RIBEIRO, A. G., SEGUNDO, M. A., OLIVEIRA, J. F., LIMA, M. C., SOUZA, T. R., MOURA, R. O. Synthesis, DNA and protein interactions and human topoisomerase inhibition of novel spiro-acridine derivatives. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, n. 26, v. 22, p. 5911-5921, 2018.

GRUBER, C. J., TSCHUGGUEL, W., SCHNEEBERGER, C., & HUBER, J. C. Production and actions of estrogens. **The New England Journal of Medicine**, n. 346, v. 5, p. 340-353, 2002. doi:10.1056/NEJMra000471

GUIDO, R. V., & ANDRICOPULO, A. D. Modelagem molecular de fármacos. **Processos Químicos**, n. 4, p. 24-36, 2008. doi:<https://doi.org/10.19142/rpq.v2i4.66>

HO, P. S., & ANDERSON, D. M. Halogen Bonds in Biomolecular Engineering. Em S. Huber, **Halogen Bonding in Solution**. Wiley Online Library, 2021.

HUBER, P. C., MARUIAMA, C. H., & ALMEIDA, W. P. Glicoproteína-P, resistência a múltiplas drogas (MDR) e relação estrutura-atividade de moduladores. **Química Nova**, n. 33, v. 10, 2010. doi: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422010001000027>

HUEY, R., & MORRIS, G. M. (2008). Using AutoDock 4 with AutoDockTools: A Tutorial. **The Scripps Research Institute**.

IARC. **Breast Cancer Awareness Month 2022**, 2022. Fonte: Internacional Agency for Research on Cancer: <https://www.iarc.who.int/news-events/breast-cancer-awareness-month-2022/>

INCA. **Estimativa 2020**. Brasil, 2020. Fonte: <https://www.inca.gov.br/estimativa/estado-capital/brasil>

JAFARI, S. H., SAADATPOUR, Z., SALMANINEJAD, A., MOMENI, F., MOKHTARI, M., NAHAND, J. S., KIANMEHR, M. Breast cancer diagnosis: Imaging techniques and biochemical. **Journal of Cellular Physiology**, p. 5200-5213, 2017. doi:10.1002/jcp.26379

JIA, M., DAHLMAN-WRIGHT, K., & GUSTAFSSON, J. Estrogen receptor alpha and beta in health and disease. **Best Practice and Research Clinical Endocrinology and Metabolism**, n. 29, v. 4, p. 557-568, 2015. doi:<https://doi.org/10.1016/j.beem.2015.04.008>

JORDAN, V.. New insights into the metabolism of tamoxifen and its role in the treatment and prevention of breast cancer. **Steroids**, n. 72, v. 13, p. 829-842, 2007. doi:<https://doi.org/10.1016/j.steroids.2007.07.009>

JORDAN, V. C. Tamoxifen: a most unlikely pioneering medicine. **Nature Reviews Drug Discovery**, n. 2, p. 205-213, 2003. doi:<https://doi.org/10.1038/nrd1031>

KUJAWSKI, J., POPIELARSKA, H., MYKA, A., DRABINSKA, B., & BERNARD, M. K. The log P Parameter as a Molecular Descriptor in the Computer-aided Drug Design – an Overview. **Computational Methods in Science and Technology**, n. 2, p. 81-88, 2012.

KUMAR, S., & RITIKA. A brief review of the biological potential of indole derivatives. **Future Journal of Pharmaceutical Sciences**, 2020 <https://doi.org/10.1186/s43094-020-00141-y>. doi:<https://doi.org/10.1186/s43094-020-00141-y>

KUMAR, S., BAWA, S., & GUPTA, H. Biological Activities of Quinoline Derivatives. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, n. 9, v. 14, p. 1648-1654, 2009.

KUMARI, A., & SINGH, R. K.. Medicinal chemistry of indole derivatives: Current to future therapeutic perspectives. **Bioorganic Chemistry**, n. 89, 2019. doi:<https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.103021>

LAZZAROTTO, M. Do método manual de Topliss para um método quantitativo. 2000. Dissertação (Mestrado)- Universidade Federal de Santa Catarina, 2000.

LEMKE, T. L., WILLIAMS, D. A., ROCHE, V. F., & ZITO, S. W. **Foye Principles of Medicinal Chemistry**. 7ª edição. Lippincott Williams and Wilkins, 2013.

LIMA, L. M. Fundamentos do Metabolismo de Fármacos. Em E. J. BARREIRO, & C. A. FRAGAS, **Química Medicinal**. Artmed, 2015, p. 608.

LIMA, L. M., & BARREIRO, E. J. Bioisosterism: A Useful Strategy for Molecular Modification and Drug Design. **Current Medicinal Chemistry**, n. 12, v. 1, p. 23-49, 2005. doi: <https://doi.org/10.2174/0929867053363540>

LITWIN, M. S., & TAN, H. The diagnosis and treatment of prostate cancer. **JAMA Network**, n. 317, v. 24, p. 2532-2542, 2017. doi:10.1001/jama.2017.7248.

MA, J., BAO, G., WANG, L., LI, W., XU, B., DU, B., GONG, P. Design, synthesis, biological evaluation and preliminary mechanism study of novel benzothiazole derivatives bearing indole-based moiety as potent antitumor agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, n. 96, p. 173-186, 2015 doi:10.1016/j.ejmech.2015.04.018

MCDONNELL, D. P., & NORRIS, J. D. Connections and Regulations of the human estrogen receptor. **Science**, n. 296, p. 1642-1644, 2002.

MORRIS, G. M., GOODSSELL, D. S., HALLIDAY, R. S., HUEY, R., HART, W. E., BELLEW, R. K., & OLSON, A. J. Automated docking using a Lamarckian genetic algorithm and an empirical binding free energy function. **Journal of Computational Chemistry**, n. 19, v. 14, p. 1639-1662, 1998.

NILSSON, S., & GUSTAFSSON, J. A. Estrogen receptor transcriptions and transactivation: basic aspects of estrogen action. **Breast Cancer Research**, n. 2, p. 360-366, 2000.

OMOTO, Y., & IWASE, H. Clinical significance of estrogen receptor β in breast and prostate cancer from biological aspects. **Cancer Science**, n. 106, v. 4, pp. 337-343, 2015. doi:<https://doi.org/10.1111/cas.12613>

OSBORNE, C. K. Tamoxifen in the Treatment of Breast Cancer. **The New England Journal of Medicine**, n. 339, p. 1609-1618, 1998. doi:10.1056/NEJM199811263392207

PAGADALA, N. S., SYED, K., & TUSZYNSKI, J. Software for molecular docking: a review. **Biophysical Reviews**, n. 9, p. 91-102, 2017.

PATANI, G. A., & LAVOIE, E. J. Bioisosterism: A Rational Approach in Drug Design. **Chemical Reviews**, n. 96, v. 8, p. 3147-3176, 1996. doi:<https://doi.org/10.1021/cr950066q>

PATRICK, G. L. **An Introduction to Medicinal Chemistry**. 5ª edição. Oxford, 2015.

PEREIRA, D. G. Importância do metabolismo no planejamento de fármacos. **Química Nova**, n. 30, v. 1, 2007. doi:<https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000100029>

PEREIRA, D. G. Importância do metabolismo no planejamento de fármacos. **Química Nova**, n. 30, v. 1, 2007.

PERNAR, C. H., EBOT, E. M., WILSON, K. M., & MUCCI, L. A. The Epidemiology of Prostate Cancer. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, 2018. doi:[10.1101/cshperspect.a030361](https://doi.org/10.1101/cshperspect.a030361)

PINHEIRO, A. C., BISPO, M. L., & SOUZA, M. V. A Importância do Núcleo Quinolínico e seus Derivados no Desenvolvimento de Fármacos. **Revista Fitos**, n. 5, v. 3, p. 53-64, 2010. doi:[10.32712/2446-4775.2010.119](https://doi.org/10.32712/2446-4775.2010.119)

PIRES, D. E., BLUNDELL, T. L., & ASCHER, D. B. pKCSM: Predicting Small-Molecules Pharmacokinetic and Toxicity Properties Using Graph-Based Signatures. **Journal of Medicinal Chemistry**, n. 58, v. 9, p. 4066-4072, 2015.

PRASHER, P., & SHARMA, M. Medicinal chemistry of acridine and its analogues. **MedChemComm**, 2018. doi:[10.1039/c8md00384j](https://doi.org/10.1039/c8md00384j)

RANI, P., SRIVASTAVA, V. K., & KUMAR, A. Synthesis and antiinflammatory activity of heterocyclic indole derivatives. **European Journal of Medicinal Chemistry**, n. 39, v. 5, p. 449-452, 2004. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2003.11.002>

RAWLA, P. Epidemiology of Prostate Cancer. **World Journal of Oncology**, n. 10, v. 2, p. 63-89, 2019. doi:[10.14740/wjon1191](https://doi.org/10.14740/wjon1191)

ROY, S. S., & VADLAMUDI, R. K. Role of Estrogen Receptor Signaling in Breast Cancer Metastasis. **International Journal of Breast Cancer**, p. 654-698, 2012.

doi:10.1155/2012/654698

SANCHEZ-SPITMAN, A. B., SWEN, J. J., DEZENTJE, V., MOES, D. J., GELDERBLOM, H., & GUCHELAAR, H. J.) Clinical pharmacokinetics and pharmacogenetics of tamoxifen and endoxifen. **Expert Review of Clinical Pharmacology**, n. 6, p. 523-536, 2019.

doi:<https://doi.org/10.1080/17512433.2019.1610390>

SANTOS, R. C., DANIEL, I. C., PRÓSPERO, D. F., & COSTA, C. L. Modificação Molecular Incremental: Análise De Parâmetros Físico-Químicos, Farmacocinéticos E Toxicológicos In Sílico De Fármacos Inibidores Seletivos Da Recaptação De Serotonina (ISRSS). **Boletim Informativo GEUM**, n. 9, v. 2, 2018.

SANTOS, V. O., & RIBEIRO, T. S. Segurança do Paciente na Administração de Quimioterapia Antineoplásica: uma Revisão Integrativa. **Revista Brasileira de Cancerologia**, n. 61, v. 2, 2015.

SCALERCIO, S. R. **Estudo teórico do mecanismo redox de derivados quinolínicos na atividade antimalárica**. 2010. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal do Pará.

SCHAMES, J. R., HENCHMAN, R. H., SIEGEL, J. S., SOTRIFFER, C. A., NI, H., & MCCAMMON, J. A. Discovery of a novel binding trench in HIV integrase. **Journal of Medicinal Chemistry**, n. 47, v. 8, p. 1879-1881, 2004.

SETHI, A., JOSHI, K., SASIKALA, K., & ALVALA, M. Molecular Docking in Modern Drug Discovery: Principles and Recent Applications. Em V. GAITONDE, P. KARMAKAR, & T. ASHIT, **Drug Discovery and Development: New Advances**. London: IntechOpen, 2020.

SHANLE, E. K., & XU, W. Endocrine disrupting chemicals targeting estrogen receptor signaling: identification and mechanisms of action. **Chemical Research in Toxicology**, n. 24, v. 1p. 6-19, 2011. doi:10.1021/tx100231n

SILVA, R. F., SASSO, G. R., GIRÃO, J. H., BARACAT, M. C., & SIMÕES, R. S. Androgênios e mama. **Reprodução e Climatério**, n. 23, v. 2, p. 127-131, 2017.

SINGH, A., & JANA, N. Discovery of potential Zika virus RNA polymerase inhibitors by docking-based virtual screening. **Computational Biology and Chemistry**, n. 71, p. 144-151, 2017.

SONDHI, S. M., SINGH, J., RANI, R., GUPTA, P. P., AGRAWAL, S. K., & SAXENA, A. K. Synthesis, anti-inflammatory and anticancer activity evaluation of some novel acridine derivatives. **European Journal of Medicinal Chemistry**, n. 42, v. 2, p. 555-563, 2009. doi:doi:10.1016/j.ejmech.2009.10.042

SUN, J., BAUDRY, J., KATZENELLENBOGEN, J. A., & KATZENELLENBOGEN, B. S. Molecular Basis for the Subtype Discrimination of the Estrogen Receptor- β -Selective Ligand, Diarylpropionitrile. **Molecular Endocrinology**, n. 17, v. 2, p. 247-258, 2003.

TAPIERO, H., NGUYEN BA, G., & TEW, K. D. Estrogens and environmental estrogens. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, n. 56, v. 1, p. 36-44, 2002. doi:https://doi.org/10.1016/S0753-3322(01)00155-X

THOMAS, C., & GUSTAFSSON, J. The different roles of ER subtypes in cancer biology and therapy. **Nature Reviews**, n. 11, p. 597-608, 2011. doi:10.1038/nrc3093

THOMAS, G. **Medicinal Chemistry An Introduction**. 2ª edição. Wiley, 2007.

TREWARTHA, D., & CARTER, K. Advances in prostate cancer treatment. **Nature Reviews Drug Discovery**, n. 12, p. 823-824, 2013.

WAKS, A. G., & WINER, E. P. Breast cancer treatment. **JAMA Network**, n. 321, v. 3, p. 288-300, 2019. doi:10.1001/jama.2018.20751

WANG, S., DONG, G., & SHENG, C. Structural simplification: an efficient strategy in lead optimization. **Acta Pharmaceutica Sinica B**, n. 9, v. 5, p. 880-901, 2019.

doi:<https://doi.org/10.1016/j.apsb.2019.05.004>

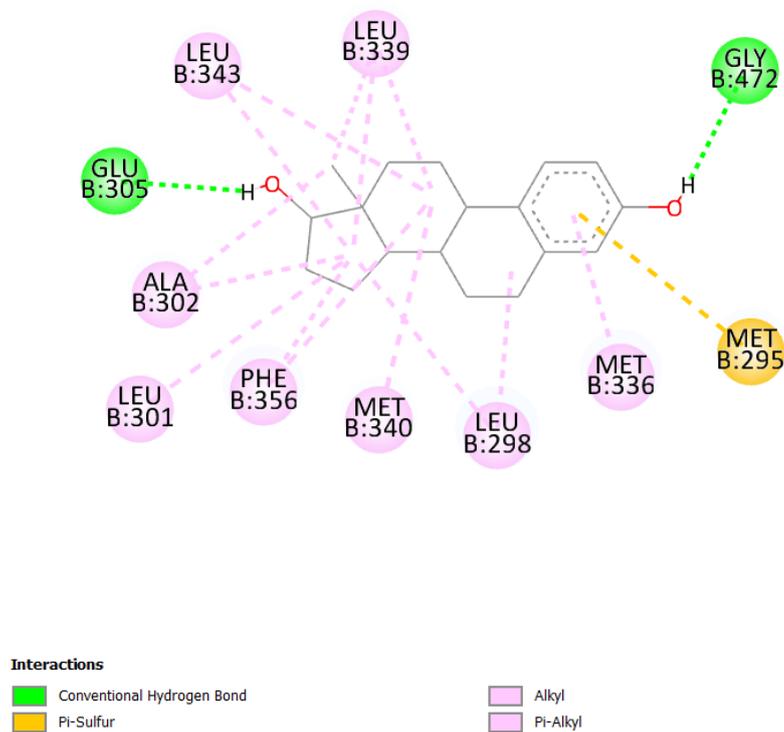
WIRTH, M. P., HAKENBERG, O. W., & FROEHNER, M. Antiandrogens in the Treatment of Prostate Cancer. **European Urology**, n. 51, p. 306-314, 2007.

XIONG, G., WU, Z., YI, J., FU, L., YANG, Z., HSIEH, C., CAO, D. ADMETlab 2.0: an integrated online platform for accurate and comprehensive predictions of ADMET properties. **Nucleic Acids Research**, n. 49, v. 1, p. 5-14, 2021.

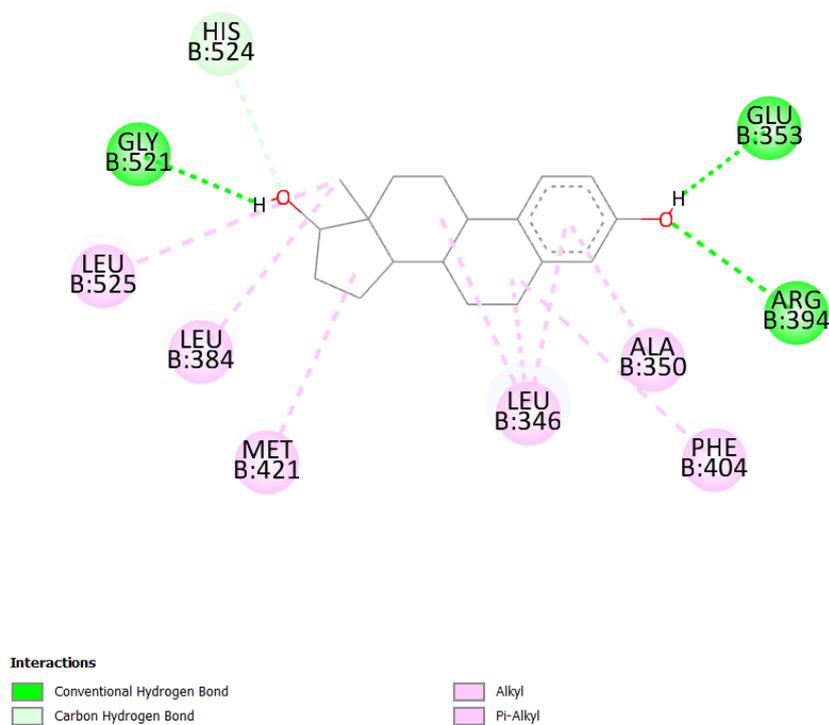
ZARETZKI, J., MATLOCK, M., & SWAMIDASS, S. J. Accurately predicting CYP-mediated sites of metaolism with neural networks. **Journal of chemical information and modeling**, n. 53, v. 12, p. 3373-3383, 2013.

APÊNDICES

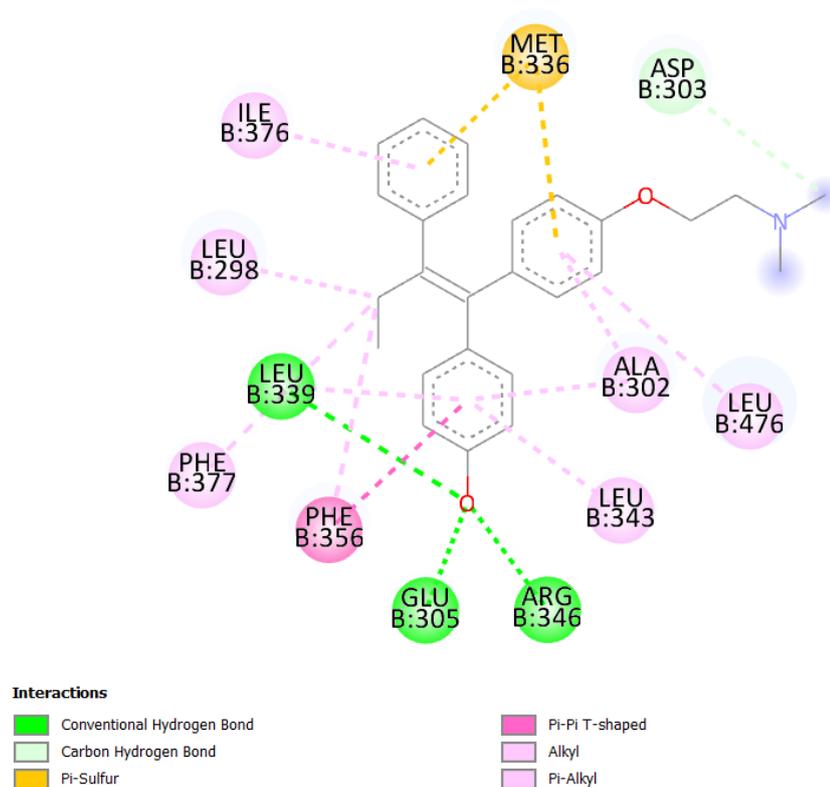
Apêndice A – Docking do estradiol no alvo 2FSZ.



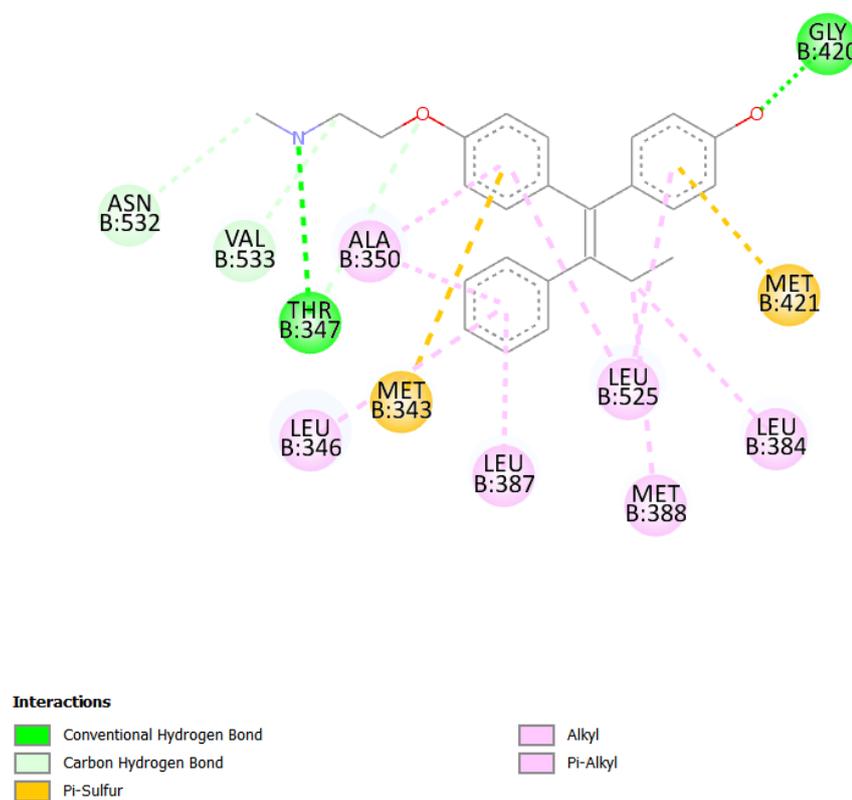
Apêndice B – Docking do estradiol no alvo 5W9D.



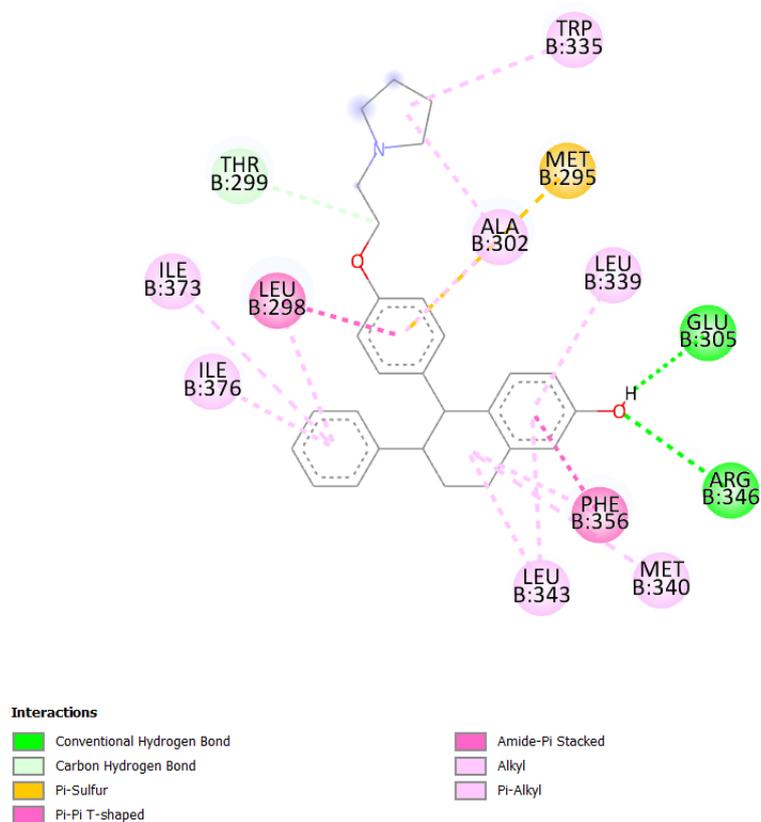
Apêndice C – Docking do antagonista 4-hidroxitamoxifeno no alvo 2FSZ.



Apêndice D – Docking do antagonista Endoxifeno no alvo 5W9D.



Apêndice E – Docking do antagonista Lasofoxifeno no alvo 2FSZ.



Apêndice F – Docking do antagonista Lasofoxifeno no alvo 5W9D.

