

Determinação de propriedades farmacocinéticas e farmacologia *in silico* de cafeatos fenólicos

Pharmacokinetic properties determination and *in silico* pharmacology of phenolic caffeates

David Lucas Zegolan Marcondes
Marcondes@alunos.utfpr.edu.com
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, Paraná, Brasil

Adriano Lopes Romero
adrianoromero@utfpr.edu.br
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, Paraná, Brasil

Rafaele Bonzanini Romero
rbromero@utfpr.edu.br
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, Paraná, Brasil

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar as propriedades farmacocinéticas e a farmacologia *in silico* do ácido cafeico (**11**) e de dez cafeatos (**1-10**). Para este estudo, selecionou-se como alvos farmacológicos as enzimas anidrase carbônica, AC {I (PDB 5GMM), II (PDB 1BNW) e III (PDB 1Z93)}, que estão associadas a doenças oculares, e as enzimas monoamina oxidase {MAO-A (PDB 2Z5X) e MAO-B (PDB 2V5Z)}, que estão associadas a doenças neurodegenerativas. Para a enzima AC I observou-se que os cafeatos estão ancorados em três regiões distintas do sítio ativo. Para a enzima AC II observou-se que há seis cafeatos (**2, 5, 7, 8, 9 e 11**) ancorados no sítio ativo. Para a enzima AC III observou-se que há quatro cafeatos (**2, 4, 8, 11**) ancorados no sítio ativo. Nos estudos com as MAO observou-se que os compostos **6, 7 e 10** estão ancorados no sítio ativo da enzima MOA-A e que o composto **3** interage no sítio ativo da MOA-B. Conclui-se que os cafeatos **5, 7 e 9** possuem potencialidade para o desenvolvimento de fármacos antiglaucomatosos, pois inibem seletivamente a isoforma AC II. A inibição seletiva da MAO-A está associada a fármacos para tratamento de transtornos de humor, e da MAO-B em fármacos para o tratamento da doença de Parkinson.

PALAVRAS-CHAVE: Estudos *in silico*. Cafeatos. Monoamina oxidase. Anidrase carbônica.

ABSTRACT

The present study's objective was to evaluate the pharmacokinetic properties and *in silico* pharmacology of caffeic acid (**11**) and ten caffeates (**1-10**). For this study, the selective enzymes carbonic anhydrase, AC {I (PDB 5GMM), II (PDB 1BNW) and III (PDB 1Z93)}, which are associated with ocular diseases, and monoamine oxidase (MAO) enzymes MAO-A (PDB 2Z5X) and MAO-B (PDB 2V5Z)}, which are associated with neurodegenerative diseases. For the AC I it was observed that the caffeates are anchored in three distinct regions of the active site. For the AC II it was observed that there are six caffeates (**2, 5, 7, 8, 9 and 11**) anchored in the active site. For the enzyme AC III it was observed that there are four caffeates (**2, 4, 8, 11**) anchored in the active site. In MAO studies compounds **6, 7 and 10** have been found to be anchored at the active site of the enzyme MOA-A and that compound **3** interacts at the active site of MOA-B. It is concluded that caffeates **5, 7 and 9** have potential for the development of antiglaucomatous drugs, as they selectively inhibit the AC II isoform, thus reducing the possibility of side effects. Selective inhibition of MAO-A is associated with drugs for the treatment of mood disorders, and MAO-B in drugs for the treatment of Parkinson's disease.

KEYWORDS: *In silico* study. Caffeic acid. Monoamine oxidase. Carbonic anhydrase.

Recebido: 03 set. 2018.

Aprovado: 04 out. 2018.

Direito autorial:

Este trabalho está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição 4.0 Internacional.





INTRODUÇÃO

O uso de ferramentas computacionais (estudos *in silico*), muitas delas de acesso livre, pode contribuir para a diminuição do tempo e dos custos envolvidos no processo de pesquisa e desenvolvimento de novos fármacos. Nesse mesmo sentido, o uso de produtos naturais como modelo para o desenvolvimento de novos fármacos continua sendo amplamente investigado pela comunidade acadêmica. Partindo dessa perspectiva, nosso grupo de pesquisa vêm estudando o ácido cafeico (**11**) e de dez derivados formados pela esterificação com os seguintes fenóis {vanilina (**1**), fenol (**2**), 4-hidróxi,3-metóxi-acetofenona (**3**), eugenol (**4**), 3-hidróxi-acetofenona (**5**), guaiacol (**6**), salicilaldeído (**7**), carvacrol (**8**), 2-hidróxi-acetofenona (**9**) e timol (**10**)}, enquanto substâncias bioativas que possuem propriedades farmacocinéticas (absorção, metabolização e toxicidade) condizentes para candidatos à fármacos. Para este estudo, selecionou-se como alvos farmacológicos as enzimas anidrase carbônica (AC), que estão associadas a doenças oculares, e as enzimas monoamina oxidase (MAO), que estão associadas a doenças neurodegenerativas.

A inibição de determinadas enzimas anidrase carbônica pode resultar no desenvolvimento de novos fármacos antiglaucomatosos. O glaucoma é uma das principais causas de cegueira no mundo e doença ocular que causa perdas no nervo óptico, levando a desfragmentação das camadas nervosas das células da retina. Isso ocorre pelo aumento da pressão intra-ocular que possui valores que variam entre 11 e 21 mmHg. A alteração destes valores pode indicar níveis pressóricos não saudáveis para a visão, podendo causar lesão de nervo óptico: o glaucoma (SOCIEDADE BRASILEIRA DE OFTAMOLOGIA, 2018). Segundo a Organização Mundial da Saúde, cerca de 39 milhões de pessoas no mundo são cegas e outras 246 milhões tem baixa visão, sendo o glaucoma uma das principais causas (FUNDAÇÃO DORINA NOWILL, 2018). No Brasil, segundo a Sociedade Brasileira de Oftalmologia (2018), as principais causas da cegueira são as infecções congênicas, a catarata, a retinopatia da prematuridade e o glaucoma congênito, sendo que as três últimas têm tratamento.

O glaucoma pode se desenvolver durante meses ou anos, sem apresentar sintomas, já que só aparecem na fase mais avançada, com a perda da visão periférica. Devido a essas características, esta doença é diagnosticada com um exame oftalmológico cuidadoso, sendo recomendado a realização ao menos uma vez por ano, afim da sua prevenção ou controle com o uso de medicamentos apropriados que normalizam a pressão intra-ocular, impedindo que a doença avance e provoque a perda de visão (BVS, 2011).

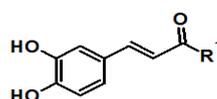
A inibição de enzimas monoamina oxidase pode resultar no desenvolvimento de novos fármacos para doenças neurodegenerativas (DNG), que, em sua maioria, não possuem cura. As DNG podem causar desordem a nível cerebral, medular e nervoso periférico, podendo levar o paciente a demência, interferindo na qualidade de vida dos portadores dessa doença e de seus familiares. Entre as DNG destaca-se a doença de Parkinson, cuja principal característica é a morte de neurônios do sistema nervoso, fazendo com que a pessoa que possui essa patogenicidade não tenha o controle de determinadas funções do seu próprio corpo, tal como o tremor nas mãos.

Inibição de MAO-A resulta em candidatos à fármacos com potencial para tratamento de transtornos de humor e, da MAO-B, em candidatos para tratamento da doença de Parkinson.

METODOLOGIA

No presente trabalho realizou-se estudos *in silico* do ácido cafeico (**11**) e dos cafeatos fenólicos (**1-10**), figura 1.

Figura 1 - Estrutura química dos cafeatos.



- (1) R = Vanilina
- (2) R = Fenol
- (3) R = 4-OH,3-OCH₃-acetofenona
- (4) R = Eugenol
- (5) R = 3-OH-acetofenona
- (6) R = Guaiacol
- (7) R = Salicilaldeído
- (8) R = Carvacrol
- (9) R = 2-OH-acetofenona
- (10) R = Timol
- (11) R = Ácido cafeico

Fonte: Autoria própria (2018).

A seguir são descritas, de forma breve, as ferramentas computacionais utilizadas no presente trabalho.

ChemSketch: utilizada para desenho estrutural e conversão tridimensional e geração dos códigos smiles esse código foi definido como padrão para utilizar nos demais programas.

Molinspiration (www.molinspiration.com/): utilizada para determinar as propriedades moleculares relacionadas à biodisponibilidade oral seguindo os parâmetros das regras de Lipinski.

Osiris Property Explorer (www.organicchemistry.org/prog/peo/): utilizada para calcular efeitos tóxicos, tais como mutagenicidade, tumorigênico, irritação e sobre a reprodução humana.

admetSAR (<http://lmmd.ecust.edu.cn:8000/>): utilizada para estudar as propriedades absorção, barreira sangue/cerebro, metabolismo e toxicidade.

Swiss Target Prediction (<http://www.swissadme.ch/>): indica possíveis alvos farmacológicos para substâncias orgânicas.

Chimera 1.10.2.: utilizada para manipular os resultados do iGEMDOCK e identificação das interações com o sítio ativo da enzima.

Os estudos de ancoragem molecular foram realizados na ferramenta iGEMDOCK 2.1 utilizando três isoformas de AC isoladas da espécie *Homo sapiens* {I (PDB 5GMM), II (PDB 1BNW) e III (PDB 1Z93)}, e as monoamino oxidase {MAO-A (2Z5X) e MAO-B (2V5Z)} baixadas a partir do banco de dados Protein Data Bank (www.rcsb.org/), e como ligantes o ácido cafeico (**11**) e seus híbridos (**1-10**).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se que todos os compostos avaliados na ferramenta Molinspiration apresentaram propriedades moleculares adequadas (Tabela 1), considerando a regra dos cinco de lipinski (LIPINSKI, 1997), para candidatos à fármacos.

A regra dos cinco de Lipinski estabelece cinco parâmetros estruturais relevantes para a predição do perfil de biodisponibilidade oral, que está associada à absorção e a permeabilidade de possíveis fármacos: (a) número de grupos aceptores de ligação hidrogênio (nALH) menor ou igual a 10; (b) número de grupos doadores de ligação hidrogênio (nDLH) menor ou igual a 5; (c) massa molecular (MM) menor ou igual a 500 g/mol; (d) coeficiente de partição octanolágua (miLogP) menor ou igual a 5; (e) área de superfície polar topológica (TSPA) menor

ou igual a 140 \AA^2 . Moléculas que violam mais do que uma destas regras podem ter problemas de biodisponibilidade oral (ROMERO; SOUZA; ROMERO, 2014). Como pode ser observado (tabela 1) os compostos avaliados não possuem nenhuma violação à regra dos cinco de Lipinski. Esses resultados indicam que os compostos avaliados possuem boa biodisponibilidade oral caso as substâncias sejam administradas por via oral.

Tabela 1 - Propriedades moleculares calculadas no software Molinspiration para as substâncias 1-11.

Composto	miLogP	MM	nALH	nDLH	TPSA	nViolações
1	2,04	314,29	6	2	93,07	0
2	2,66	256,26	4	2	66,76	0
3	2,15	328,32	6	2	93,07	0
4	3,08	326,35	5	2	76,00	0
5	2,54	298,29	5	2	83,83	0
6	2,28	286,28	5	2	76,00	0
7	2,40	284,27	5	2	83,83	0
8	4,55	312,37	4	2	66,76	0
9	2,51	298,29	5	2	83,83	0
10	4,08	312,37	4	2	66,76	0
11	0,94	180,16	4	3	77,75	0

Fonte: Autoria própria (2018).

Segundo dados obtidos na ferramenta admetSAR os compostos 1-11 apresentaram resultados negativos para os modelos de transposição de barreira sangue-cérebro (exceto para os compostos 2, 7 e 9), de carcinogenicidade, de mutagenicidade (teste de Ames) e apresentaram baixa promiscuidade inibitória das isoformas CYP450. Os compostos 1, 6 e 11 apresentaram toxicidade oral aguda igual a IV ($LD_{50} \geq 5000 \text{ mg/kg}$) e os demais compostos igual a III ($LD_{50} \geq 500 \text{ mg/kg}$ e $\leq 5000 \text{ mg/kg}$).

As predições de efeitos tóxicos, utilizando a ferramenta Osiris Property Explorer, para os compostos 1-11 são apresentadas na tabela 2.

Tabela 2 - Predição de efeitos tóxicos calculadas na ferramenta Osiris Property Explorer.

Composto	Efeitos tóxicos			
	mutagênico	tumorígeno	irritação	reprodução
1	Alto risco	Alto risco	Sem risco	Alto risco
2	Sem risco	Sem risco	Sem risco	Sem risco
3	Sem risco	Sem risco	Sem risco	Sem risco
4	Sem risco	Alto risco	Alto risco	Sem risco
5	Sem risco	Sem risco	Sem risco	Sem risco
6	Sem risco	Sem risco	Sem risco	Sem risco
7	Sem risco	Sem risco	Risco regular	Alto risco
8	Sem risco	Sem risco	Alto risco	Sem risco
9	Sem risco	Sem risco	Sem risco	Sem risco
10	Sem risco	Sem risco	Alto risco	Sem risco
11	Alto risco	Alto risco	Sem risco	Alto risco

Fonte: Autoria própria (2018).

A ferramenta Osiris Property Explorer determina, utilizando uma escala de cor (verde: sem risco; laranja: risco regular e vermelho: alto risco), os efeitos tóxicos

mutagenicidade, tumorigenicidade, iritação e sobre a reprodução humana (SANDER *et al.*, 2009). Observou-se que alguns dos compostos avaliados possuem alto risco de apresentar um ou mais efeitos tóxicos, e cinco dos compostos avaliados (**2**, **3**, **5**, **6** e **9**) não apresentaram nenhum dos quatro efeitos tóxicos calculados.

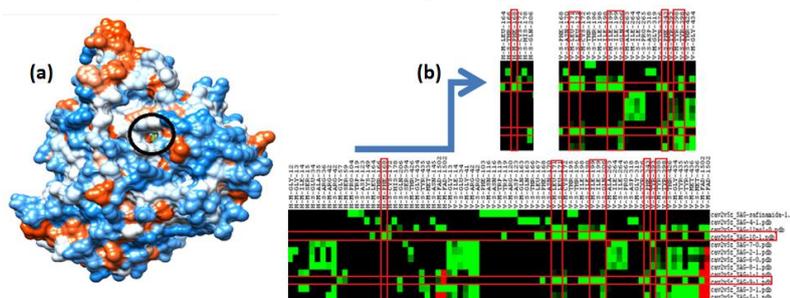
Para a enzima AC I (PDB 5GMM) observou-se que os cafeatos estão ancorados em três regiões distintas do sítio da ativo. Para a enzima AC II (PDB 1BNW) observou-se que há seis cafeatos (**2**, **5**, **7**, **8**, **9** e **11**) ancorados no sítio ativo, estabelecendo interações com os seguintes resíduos de aminoácidos His-94, His-96, Thr-199 e His-119. Os valores de interação ligante-enzima, em kJ/mol, foram: **2** (-98,7), **5** (-97,2), **7** (-100,4), **8** (-93,6), **9** (-94,3) e **11** (-84,4).

Para a enzima AC III (PDB 1Z93) observou-se que há quatro cafeatos (**2**, **4**, **8**, **11**) ancorados no sítio ativo, estabelecendo interações com os seguintes resíduos de aminoácidos Thr-200, His-119, His-94 e His-96. Os valores de interação ligante-enzima, em kJ/mol, foram: **2** (-84,3), **4** (-94,2), **8** (-93,9) e **11** (-84,2).

O estudo de ancoragem com a enzima MAO-A permitiu constatar que os ésteres **2**, **5** e **7** estão ancorados no sítio ativo da enzima PDB 2Z5X, estabelecendo ligação de hidrogênio com os resíduos de aminoácidos Tyr69, Tyr407, Gln215, Phe352 e Ile180. Os ésteres em questão possuem energia de interação substrato-enzima de -108,3, -121,2 e 110,2 kJ/mol, respectivamente.

Para a enzima MAO-B observou-se que os ésteres **9** e **10** estão ancorados no sítio ativo da enzima PDB 2V5Z (Figura 2a), estabelecendo interações com os resíduos de aminoácidos Phe168, Ile199, Leu171, Gln206, Phe343 e Tyr398 (Figura 2b). Os ésteres **9** e **10** possuem energia de interação substrato-enzima de -106,2 e -121,8 kJ/mol, respectivamente.

Figura 2 - Interação de cafeatos no sítio ativo da MAO-B: Representação tridimensional (a) e interações observadas no dendograma gerado pelo iGEMDOCK (b).



Fonte: Autoria própria (2018).

CONCLUSÕES

Os compostos avaliados possuem propriedades moleculares condizentes com fármacos de administração oral, apresentam baixas toxicidade oral aguda e promiscuidade inibitória de CYP450. Entre os compostos estudados os cafeatos **5**, **7** e **9** possuem potencialidade para o desenvolvimento de fármacos antiglaucomatosos, pois inibem seletivamente a isoforma AC II, diminuindo assim as possibilidades de efeitos colaterais. Os compostos **2**, **5** e **7**, inibidores seletivos da MAO-A, possuem potencialidade para atuarem como fármacos para tratamento de transtornos de humor, e os compostos **9** e **10**, inibidores seletivos da MAO-B, para o tratamento da doença de Parkinson.



REFERÊNCIAS

BIBLIOTECA VIRTUAL EM SAÚDE. **Glaucoma**. Disponível em: <http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/dicas/234_glaucoma.html>. Acesso em: 24 ago. 2018.

Fundação Dorina Nowill. **Estatísticas da deficiência visual**. <<https://www.fundacaodorina.org.br/a-fundacao/deficiencia-visual/estatisticas-da-deficiencia-visual/>>. Acesso em: 24 ago. de 2018.

LIPINSKI, C. A.; Lombardo, F.; Dominy, B. W.; Feeney, P. J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 23, n. 1-3, p. 3-25, 1997.

SANDER, T.; FREYSS, J.; VON KORFF, M.; REICH, J.R.; RUFENER, C. OSIRIS, an entirely in-house developed drug discovery informatics system. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 49, n. 2, p. 232-46, 2009.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE OFTAMOLOGIA. **Dia Mundial da Visão**: 8 de outubro de 2009. Disponível em: <<http://www.sboportal.org.br/links.aspx?id=7>>. Acesso em: 24 ago. de 2018.

ROMERO, A. L.; SOUZA, J. P. A.; ROMERO, R. B. Propriedades farmacocinéticas e interação de híbridos de ibuprofeno e produtos naturais com prostaglandina G/H sintase 2. **Colloquium Exactarum**, v. 6, n. 4, p. 21-30, 2014. Disponível em: <<http://revistas.unoeste.br/revistas/ojs/index.php/ce/article/view/1299/1402>>. Acesso em: 29 ago. 2018.

SCHESTATSKY, P. **Doenças neurológicas**. Disponível em: <<http://pedroschestatsky.com.br/index.php/doencas-neurologicas>>. Acesso em: 29 ago. 2018.



AGRADECIMENTOS

Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campo Mourão