

# Estudos computacionais de cinamatos fenólicos e incorporação em nanopartículas de acetato de celulose

## Computational studies of phenolic summits and incorporation into cellulose acetate nanoparticles

Mirele Costa Neves

[mirele\\_neves92@hotmail.com](mailto:mirele_neves92@hotmail.com)

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, Paraná, Brasil

Kamila Augusta Leão de Oliveira

[kaoliveira3005@gmail.com](mailto:kaoliveira3005@gmail.com)

Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil

Vanessa Hafemann

[vanessahafe@hotmail.com](mailto:vanessahafe@hotmail.com)

Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil

Adley Forti Rubira

[afrubira@uem.br](mailto:afrubira@uem.br)

Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil

Adriano Lopes Romero

[adrianoromero@utfpr.edu.br](mailto:adrianoromero@utfpr.edu.br)

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, Paraná, Brasil

Rafaele Bonzanini Romero

[rbromero@utfpr.edu.br](mailto:rbromero@utfpr.edu.br)

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, Paraná, Brasil

### RESUMO

Os estudos computacionais são de extrema importância na área de desenvolvimento de novos fármacos, sendo utilizados para determinação de propriedades moleculares, farmacocinéticas e terapêuticas. Com o intuito da diminuição dos efeitos tóxicos e colaterais de fármacos comerciais desenvolveu-se a área de liberação controlada de fármacos. Tal área busca maior estabilidade nos fluídos biológicos e de armazenamento dos fármacos, manter os níveis de liberação do fármaco na faixa terapêutica por tempo prolongado e em locais pré-determinados, mantendo os níveis sanguíneos terapêuticos ideais. Neste contexto, este trabalho teve como objetivo realizar estudos computacionais para determinação de propriedades moleculares, farmacocinéticas e terapêuticas de derivados do ácido cinâmico (cinamatos de eugenila, timila e vanilina) e incorporação destes em nanopartículas de acetato de celulose (AC). Estudos computacionais indicam que os cinamatos avaliados possuem propriedades moleculares adequadas para fármacos de administração oral, apresentam baixa tendência a metabolização e toxicidade oral aguda adequada para novos candidatos à fármacos. No estudo de possíveis alvos farmacológicos observou-se um potencial inibitório de enzimas associadas ao desenvolvimento de células cancerígenas. Os derivados mencionados foram incorporados em nanopartículas de AC pela técnica de miniemulsificação/evaporação do solvente, na qual os cinamatos presentes no meio orgânico são incorporados no interior das nanoesferas, que possuem um ambiente químico mais lipofílico. Os materiais obtidos foram caracterizados por microscopia eletrônica de varredura, que permitiu observar a formação homogênea de esferas com dimensões nanométricas. O estudo permitiu a obtenção de nanoesferas incorporadas com cinamatos que possuem potencialidade para desenvolvimento de sistemas de liberação controlada de fármacos quimioterápicos.

**PALAVRAS-CHAVE:** Estudo *in silico*. Cinamatos. Nanoesferas.

Recebido: 03 set. 2018.

Aprovado: 04 out. 2018.

Direito autoral:

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





## ABSTRACT

Computational studies are extremely important in the development of new drugs and are used to determine molecular, pharmacokinetic and therapeutic properties. In order to reduce the toxic and collateral effects of commercial drugs the area of controlled drug release is developed. This area seeks greater stability in the biological and storage fluids of drugs, maintain the levels of drug release in the therapeutic range for prolonged time and in predetermined places, maintaining the ideal therapeutic blood levels. In this context, the objective of this work was to carry out computational studies to determine the molecular, pharmacokinetic and therapeutic properties of cinnamic acid derivatives (cinnamates of eugenila, timila and vanillin) and their incorporation into cellulose acetate (AC) nanoparticles. Computational studies indicate that the cinnamates evaluated have adequate molecular properties for oral administration drugs, have low propensity for metabolism and acute oral toxicity suitable for new drug candidates. In the study of possible pharmacological targets an inhibitory potential of enzymes associated with the development of cancer cells was observed. The aforementioned derivatives were incorporated into AC nanoparticles by the miniemulsification / solvent evaporation technique, in which the cinnamates present in the organic medium are incorporated into the nanospheres, which have a more lipophilic chemical environment. The obtained materials were characterized by scanning electron microscopy, which allowed to observe the homogeneous formation of spheres with nanometric dimensions. The study allowed to obtain nanospheres incorporated with cinnamates that have potential for the development of systems of controlled release of chemotherapeutic drugs.

**KEYWORDS:** In silico study. Cinnamates. Nanospheres.



## INTRODUÇÃO

A pesquisa e desenvolvimento de novas substâncias com efeito terapêutico, assim como a diminuição de efeitos indesejáveis de fármacos comerciais têm sido alvo de estudo de profissionais da academia e de indústrias farmacêuticas. Nesse contexto, o uso de estudos computacionais são de extrema importância para determinação de propriedades moleculares, farmacocinéticas e terapêuticas de novos candidatos à fármacos.

Com o intuito de diminuir os efeitos tóxicos e colaterais de fármacos comerciais desenvolveu-se a área de liberação controlada de fármacos. Tal área busca maior estabilidade nos fluídos biológicos e de armazenamento dos fármacos, manter os níveis de liberação do fármaco na faixa terapêutica por tempo prolongado e em locais pré-determinados, mantendo os níveis sanguíneos terapêuticos ideais.

Dentre as possibilidades de sistemas para confecção de sistemas de liberação controlada destaca-se as matrizes que permitem o desenvolvimento de sistemas em escala nanométrica. As nanopartículas poliméricas, por exemplo, que são sistemas carreadores de fármacos que possuem uma grande área superficial, possui uma diversidade de aplicação em várias vertentes da ciência (QUINA, 2004; SCHAFFAZICK *et al.*, 2002; RIBOLDI, 2009).

As nanopartículas são promissores liberadores de fármacos, principalmente as constituídas por polímeros biodegradáveis, devido às suas potencialidades terapêuticas, à maior estabilidade nos fluídos biológicos e de armazenamento.

Nesse contexto, nosso grupo de pesquisa vêm explorando o uso de ferramentas computacionais para a produção de novas substâncias farmacologicamente ativas, assim como estudar formas de produção de sistemas de liberação controlada para as diferentes formas de administração.

Dentre as várias classes de produtos naturais que possuem potencialidade para o desenvolvimento de novos fármacos destaca-se os pertencentes a classe fenilpropanóide. Estudos indicam que fenilpropanóides apresentam atividade antirretroviral, antibacteriana, antifúngica, anti-inflamatória, cicatrizante e antitumoral (VICTORINO *et al.*, 2009; MURAKAMI *et al.*, 2000; GRAVINA *et al.*, 2011).

Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo realizar estudos computacionais para a determinação de propriedades moleculares, farmacocinéticas e terapêuticas de derivados do ácido cinâmico (cinamatos de eugenila, timila e vanilina) e incorporação destes em nanopartículas de acetato de celulose (AC).

## MÉTODO

A seguir são descritas as metodologias utilizadas nos estudos computacionais e para obtenção das nanopartículas de acetato de celulose incorporadas com os cinamatos de eugenila, timila e vanilina.

### Estudos *in silico*

Para a realização dos estudos *in silico* utilizou-se as ferramentas computacionais ChemSketch, Molinspiration e iGEMDOCK 2.1 descritas por Romero; Souza; Romero, (2014), Swiss Target Prediction (<http://www.swissadme.ch/>), que indica possíveis

alvos farmacológicos para substâncias orgânicas, e Chimera 1.11 utilizada para estudar as interações enzima-ligante.

Os estudos de ancoragem molecular entre a enzima aldo-ceto redutase (PDB 4GQ0), baixada a partir do banco de dados *Protein Data Bank*, e os cinamatos de eugenila, timila e vanilina foram realizados utilizando a ferramenta iGEMDOCK.

### Obtenção de nanopartículas carregadas com cinamatos

A metodologia utilizada para obtenção das nanopartículas de acetato de celulose foi adaptada de Neves *et al.* (2017). A fase orgânica foi preparada, sob agitação magnética por 30 minutos, utilizando 15,0 mL de diclorometano e 300 mg de AC. Após o intumescimento do AC os cinamatos foram incorporados na fase orgânica. A fase aquosa foi preparada pela dissolução de 150 mg do surfactante poli(álcool vinílico) em 100 mL de água destilada sob agitação magnética. Em seguida, transferiu-se a fase orgânica à fase aquosa e o composto de estudo, cinamato de eugenila ou timila ou vanilina, que foram levadas a um ultrassom de ponta (Cole-Parmer 500, modelo EW-04711-40), utilizando uma frequência de 20 kHz por 5 min., com ciclos de 30 segundos. Após a sonicação, aqueceu-se a solução a 40 °C até a evaporação total do solvente. O produto foi separado por centrifugação, lavado com água e seco. Após a sonicação, aqueceu-se a solução a 40 °C até a evaporação total do solvente sob agitação magnética.

### Caracterização morfológica

A caracterização morfológica das amostras foi realizada utilizando microscopia eletrônica de varredura (MEV) e por microscopia eletrônica de transmissão (MET). O Microscópio Eletrônico de Varredura utilizado foi Shimadzu, modelo SS 550 Superscan, aplicando voltagem de aceleração de 15 kV e intensidade de corrente de 30 µA. O Microscópio Eletrônico de Transmissão utilizado foi JEOL, modelo JEM-1400, aplicando voltagem de aceleração de 120 kV. O tamanho médio das partículas foram determinados pelo software *Size Meter*.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

O estudo utilizando a ferramenta Molinspiration indica que os cinamatos estudados possuem propriedades adequadas (Quadro 1) desejáveis para fármacos de administração oral, indicando que os mesmos possuirão boa disponibilidade oral.

Quadro 1 – Propriedades moleculares calculadas, utilizando a ferramenta Molinspiration, para os compostos estudados.

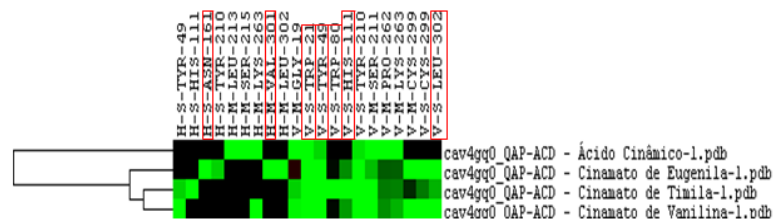
Composto	miLogP	MM	nALH	nDLH	TSPA	nViolações
Ácido cinâmico	1,91	148,16	2	1	37,30	0
Cinamato de eugenila	4,04	294,35	3	0	35,54	0
Cinamato de timila	5,05	280,37	2	0	26,30	1
Cinamato de vanilina	3,01	282,30	4	0	52,61	0

Fonte: Autoria própria (2018).

A partir dos dados obtidos na ferramenta Swiss Targert Prediction observou-se como potenciais alvos farmacológicos algumas enzimas relacionadas ao desenvolvimento do câncer, tal como a enzima aldo-ceto redutase.

Ao realizar estudos de ancoragem molecular entre a enzima aldo-ceto redutase (PDB 4GQ0) e os cinamatos de eugenila, timila e vanilina observou-se que todos os compostos avaliados estão ancorados no bolsão do sítio ativo da enzima, estabelecendo interações com os resíduos de aminoácidos His111, Tyr49, Trp21, Val301, Asn161, Leu302 e Trp80 (Figura 1).

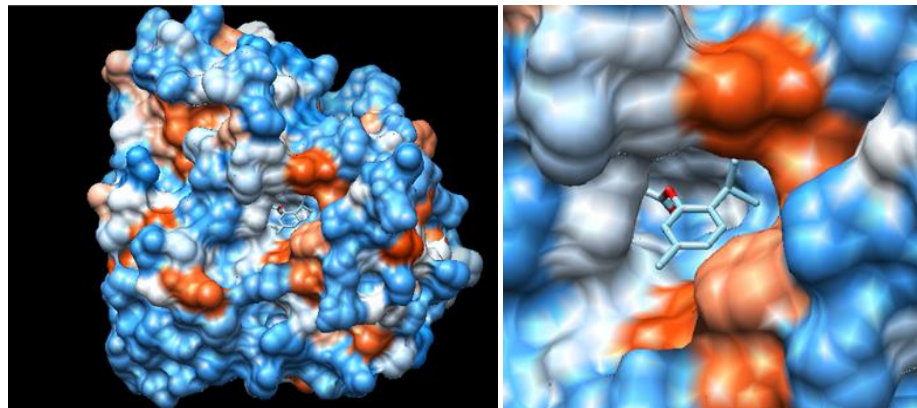
Figura 1 – Interações intermoleculares estabelecidas entre a enzima aldo-ceto redutase (PDB 4GQ0) e os ligantes (ácido cinâmico, cinamato de eugenila, de timila e de vanilina).



Fonte: Autoria própria (2018).

A confirmação visual foi realizada utilizando a ferramenta Chimera 1.11, na qual foi possível observar que o composto cinamato de timila está localizado, assim como o ligante cristalográfico, na entrada do sítio ativo (Figura 2), estabelecendo interação ligante-enzima de -109,13 kJ/mol.

Figura 2 – Representação das interações dos derivados avaliados com a enzima AKR1B10 obtidas no estudo de ancoragem molecular realizado na ferramenta Chimera.



Fonte: Autoria própria (2018).

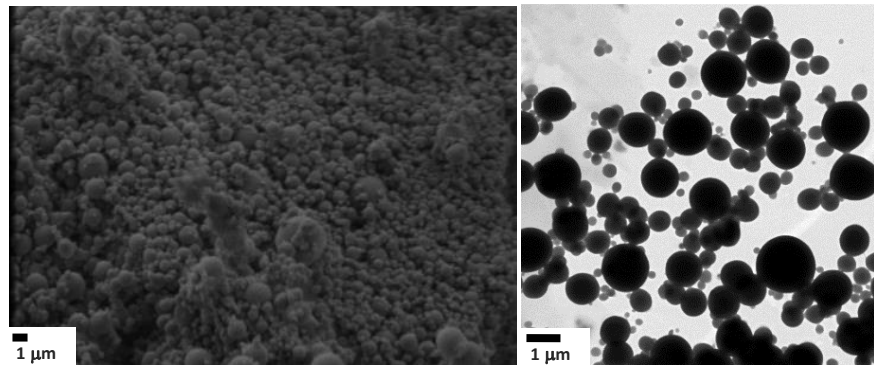
Os cinamatos foram incorporados em nanopartículas de AC utilizando a técnica de miniemulsificação/evaporação do solvente, na qual os cinamatos presentes no meio orgânico são incorporados no interior das nanoesferas (Figura 3), que possuem um ambiente químico mais lipofílico. Os materiais obtidos foram caracterizados por microscopia eletrônica de varredura e microscopia eletrônica de transmissão (Figura 4), que permitiram observar a formação de esferas com dimensões nanométricas e micrométricas.

Nas micrografias de MEV das partículas de acetato de celulose puro, Figura 3, foi possível observar esferas com dimensões nanométricas (274 nm) até dimensões micrométricas (3389 nm), com alto grau de agregação. Já nas micrografias das partículas de acetato de celulose com cinamato de vanilina (Figura 4), verificou-se a



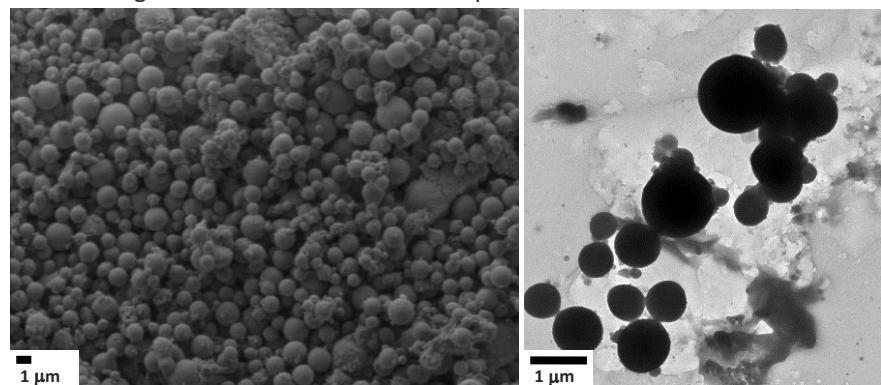
formação de um sistema mais homogêneo, obtendo partículas de tamanhos mais uniforme, variando 613 à 2631 nm. Além disso, observou-se que as partículas estão menos agregadas.

Figura 3 - Micrografias de MEV e MET das nanopartículas de AC.



Fonte: Autoria própria (2018).

Figura 4 - Micrografias de MEV e MET das nanopartículas de AC com cinamato de vanilina.



Fonte: Autoria própria (2018).

## CONCLUSÃO

A partir do presente estudo foi possível concluir que os cinamatos (de timila, eugenila e vanilina) são passíveis de serem encapsulados em nanopartículas de acetato de celulose, melhorando, inclusive, alguns aspectos morfológicos (grau de agregação e diâmetro das partículas) do sistema.

Os estudos *in silico* permitiram identificar que todos os compostos avaliados possuem propriedades moleculares favoráveis para fármacos de administração oral e apresentaram atividade inibitória da enzima aldo-ceto redutase, possuindo potencial para desenvolvimento de fármacos quimioterápicos.

## AGRADECIMENTOS

Agradecemos a Universidade Tecnológica Federal do Paraná pela concessão da bolsa de iniciação científica.



## REFERÊNCIAS

GRAVINA, H. B.; TAFURI, N. F.; SILVA JÚNIOR, A.; FIETTO, J. L. R.; OLIVEIRA, T. T.; DIAZ, M. A. N.; ALMEIDA, M. R. *In vitro* assessment of the antiviral potential of *trans*-cinnamic acid, quercetin and morin against *equid herpesvirus 1*. **Research in Veterinary Science**, v. 91, n. 3, p. e158-e162, 2011.

MURAKAMI, A.; TOYOTA, K.; OHURA, S.; KOSHIMIZU, K.; OHIGASHI, H. Structure–activity relationships of (1′s)-1′-acetoxychavicol acetate, a major constituent of a southeast asian condiment plant *Languas galanga*, on the inhibition of tumor-promoter-induced epstein–barr virus activation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 5, p. 1518-1523, 2000.

NEVES, M. C.; CELLET, T. S. P.; ROMERO, A. L.; ROMERO, R. B. Desenvolvimento de nano e micropartículas de acetato de celulose para sistemas de liberação controlada de anti-inflamatórios não esteróides. **Colloquium Exactarum**, v. 9, n. 4, p. 15-24, out./dez. 2017. Disponível em: <<http://revistas.unoeste.br/revistas/ojs/index.php/ce/article/viewArticle/2264>>. Acesso em: 13 mar. 2018.

QUINA, F. Nanotecnologia e o Meio Ambiente: Perspectivas e Riscos. **Química Nova**, v. 27, n. 6, p. 1028-1029, 2004. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/qn/v27n6/22297.pdf>>. Acesso em: 29 ago. 2018.

RIBOLDI, B. M. **Nanotecnologia: Fundamentos e aplicações**. 2009. 22p. Trabalho científico - Departamento de Física – Universidade Estadual Paulista. São Paulo, Rio Claro, 2009.

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.

SCHAFFAZICK, S. R.; RAFFIN, A. P.; FREITAS, L. L.; GUTERRES, S. S. Caracterização e estudo de estabilidade de suspensões de nanocápsulas e de nanoesferas poliméricas contendo diclofenaco. **Acta Farmacéutica Bonaerense**, v. 21, n. 2, p. 99-106, 2002.

VICTORINO, F. R.; BRAMANTE, C. M.; WATANABE, E.; ITO, I. Y.; FRANCO, S. L.; HIDALGO, M. M. Antibacterial activity of propolis-based toothpastes for endodontic treatment. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 45, n.4, p. 795-800, 2009. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/bjps/v45n4/25.pdf>>. Acesso em: 29 ago. 2018.