

AVALIAÇÃO *IN SILICO* DE POTENCIAIS ALVOS MOLECULARES PARA METABÓLITOS DE INTERESSE DE *Cereus hildmannianus*

Maria Fernanda Santos Maranhão (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Arildo José Braz de Oliveira, Arthur Antunes Ferrarezi, Regina Aparecida Correia Gonçalves (orientadora). E-mail: racgoncalves@uem.br

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Farmácia, Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Maringá, PR.

Área: Farmácia/Farmacognosia

Palavras-chave: modelagem molecular; *docking molecular*; Cactaceae

RESUMO

O *Cereus hildmannianus* K.Schum. (Cactaceae) é um cacto que vem se destacando por suas ações farmacológicas e nutricionais. Tais propriedades se devem aos seus metabólitos basais e especializados. Utilizando a ferramenta de *docking molecular*, a pesquisa buscou avaliar o provável modo de interação entre compostos relatados, oriundos de extratos desta planta, frente a alvos moleculares presentes em células tumorais humanas. Para essa pesquisa utilizou-se o software GOLD; foram selecionados e avaliados 10 alvos moleculares presentes em três linhagens de células tumorais humanas (adenocarcinoma de mama (MCF-7), adenocarcinoma gástrico (AGS) e adenocarcinoma colorretal (CaCo-2)) previamente relatados na literatura. Dentre os compostos avaliados nos alvos selecionados, aqueles mais bem pontuados foram: ácido tianásico (*score*: 83,4438/ER α) e ácido dihidroxibenzóico *O*-dipentosídeo (*score*: 83,7793/HER-2; *score*: 84,6335/ VEGFR2), para cada linhagem, respectivamente. Os resultados obtidos sugerem que os compostos mais bem pontuados, dentro de cada extrato avaliado para cada célula, apresentam uma elevada probabilidade de se ligar a esses alvos moleculares.

INTRODUÇÃO

Os cactos, pertencentes à Cactaceae, apresentam importância significativa na vida humana. Os metabólitos basais e especializados, como compostos fenólicos, possuem relevante potencial farmacológico e nutricional para essa planta. Com distribuição variada, abrangem 124 gêneros e 1438 espécies nas Américas, das quais 270 ocorrem no Brasil, sendo o *Cereus hildmannianus* K.Schum. (Cactaceae) uma espécie de destaque (Johari; Khong, 2019). Esta planta mostra-se uma espécie bastante promissora, tendo em vista as diversas classes de metabólitos basais e especializados oriundos de suas partes aéreas (Santos *et al.*, 2022). Entender o mecanismo molecular dos metabólitos especializados é um desafio significativo, pois eles são frequentemente avaliados na forma de extratos brutos ou frações enriquecidas, ao contrário das substâncias sintéticas, onde uma única entidade molecular é responsável pelos efeitos observados *in vitro* ou *in vivo* (Singh; Pathak; Rai, 2022). Contudo, com o avanço das metodologias analíticas, é possível

identificar e quantificar as substâncias presentes nos extratos e utilizar aquelas majoritárias como marcadores moleculares representativos da ação farmacológica descrita.

Devido à complexidade dos estudos *in vitro* sobre o mecanismo de ação de substâncias bioativas, ferramentas de bioinformática, como o *docking molecular*, têm sido desenvolvidas para identificar alvos farmacológicos e prever o comportamento dos metabólitos. Essa técnica permite realizar estudos virtuais, economizando recursos laboratoriais, e apenas as moléculas, que apresentarem maior potencial de inibição do alvo, serão avaliadas *in vitro* e/ou *in vivo*. O *docking*, se destaca por prever como uma molécula se liga a um alvo farmacológico, ajudando a entender a ação de compostos bioativos extraídos de plantas (Ruyck *et al.*, 2016).

MATERIAIS E MÉTODOS

Levantamento bibliográfico

Foi realizado um levantamento bibliográfico sobre o *C. hildmannianus* para coletar dados da atividade farmacológica dos extratos da planta. A pesquisa se baseou em resultados de citotoxicidade de Santos *et al.* (2022), que identificaram as células MCF-7, AGS e CaCo-2 como as mais sensíveis frente aos extratos DCMP (extrato diclorometânico de cladódios) e DCMAC (extrato diclorometânico de calos alternativos). Foram identificados 10 possíveis alvos moleculares e as classes químicas foram analisadas e agrupadas conforme cada extrato.

Preparação dos Ligante e seleção dos alvos proteicos

As estruturas químicas dos ligantes foram obtidas das bases de dados *ChemSpider* e *PubChem*. Os cálculos de pKa foram realizados com o servidor MolGpKa; as estruturas dos ligantes foram desenhadas no *software* ChemSketch (versão 2021.2.1), considerados parâmetros como: pKa, grupos ionizáveis e estereoquímica e salvas em formato *.mol*. A otimização estrutural foi realizada no *software* Avogadro (versão 1.1.1), e salvas em formato *.mol2*. As estruturas dos alvos proteicos foram obtidas do *Protein Data Bank* (PDB) e tratadas no *software* UCSF Chimera alpha (versão 1.18), e salvas no formato *.pdb*.

Docking Molecular e visualização das estruturas

Para os estudos de docking molecular utilizou-se o *software* GOLD (versão 2023.2.0). Inicialmente, realizou-se a validação do *software* por meio do redocking dos ligantes co-cristalizados nos alvos moleculares, empregando as funções de pontuação ChemScore, ChemPLP, GoldScore e ASP; dentre as funções avaliadas, a ChemPLP foi a selecionada para a realização do *docking*. Após essa etapa, os metabólitos selecionados foram submetidos ao ancoramento nas proteínas alvo e as poses de maior pontuação foram salvas em formato *.pdb*. As análises das interações dos complexos ligantes+alvos foram feitas no *software* Discovery Studio.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os extratos do *C. hildmannianus* demonstraram diferentes atividades farmacológicas, com destaque para a atividade citotóxica contra células tumorais MCF-7, AGS e CaCo-2. Esses resultados indicam o potencial do *C. hildmannianus* como um agente antitumoral (Santos *et al.*, 2022).

Dentre os extratos avaliados para a linhagem MCF-7, o extrato DCMP foi o que apresentou o menor valor de GI_{50} (concentração responsável por 50% da inibição da viabilidade celular). Com relação aos metabólitos presentes nesse extrato, observou-se que os compostos: ácido tianásico (*score*: 83,4438), dalbergioidina (*score*: 64,8668) e catequina (*score*: 61,1665) apresentaram maiores valores de pontuação para o ER- α , indicando que este receptor seja o alvo molecular mais provável para ação desses metabólitos, conforme descrito na Tabela 1.

Tabela 1- Scores obtidos com a função ChemPLP para os compostos do extrato diclorometânico dos cladódios (DCMP) para os alvos da linhagem MCF-7

MCF-7						
Extrato	GI_{50} (μ g/mL)	Classes	Compostos	Score ChemPLP		
				ER- α	ER- β	MDM2
DCMP	177	Ácidos Carboxílicos	Ácido Succínico	28,2999	28,5874	29,5601
			Ácido Benzoico	35,1128	33,6795	33,2125
		Aldeído fenólico	Vanilina	38,8748	42,8485	41,4053
			Dalbergioidina	64,8668	63,9340	53,6627
		Flavonoides	Catequina	61,1665	59,6491	52,6000
			Ácido azelaico	52,6712	49,1004	40,5589
		Ácido fenólico	ácido tianásico	83,4438	78,5968	73,5940

Com relação as linhagens AGS e CaCo-2 o extrato DCMAC apresentou menor valor de IG_{50} . Correlacionando os valores de pontuação dos metabólitos presentes nesse extrato (Tabela 2), sobre os alvos da linhagem AGS, observou-se que os compostos apresentaram valores de pontuação semelhantes, com destaque para o ácido dihidroxibenzóico *O*-dipentosídeo, que apresentou maior *score* para o alvo *Human Epidermal Growth Factor Receptor-type 2* (HER-2, *score*: 83,7793), sugerindo uma melhor ligação nesse alvo.

Tabela 2- Scores obtidos com a função ChemPLP para os compostos do extrato diclorometânico de calos alternativos (DCMAC) para os alvos da linhagem AGS

AGS							
Extrato	GI_{50} (μ g/mL)	Classes	Compostos	Score ChemPLP			
				HER-2	EGFR	AKT2	mTOR C1
DCMAC	193	Ácido fenólico	Ácido ferúlico	46,2771	42,9280	55,4059	44,7630
			Ácido dihidroxibenzóico <i>O</i> -dipentosídeo	83,7793	76,1969	77,0664	77,0704
			Ácido hidroxibenzóico hexose	55,5703	60,9553	61,6809	58,6595
		Ácido carboxílico	Ácido cicloexano carboxílico	41,2282	39,3260	39,1583	36,7908

Quanto aos valores de pontuação dos metabólitos avaliados nos alvos da linhagem CaCo-2 (Tabela 3), observa-se um perfil de pontuação semelhante ao descrito na Tabela 2, em relação ao ácido dihidroxibenzóico *O*-dipentosídeo, o qual obteve o maior valor de pontuação comparado aos demais compostos (*score*: 84,6335), sendo o alvo *Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 2* (VEGFR2) o mais provável para sua ação.

Tabela 3- Scores obtidos com a função ChemPLP para os compostos do extrato diclorometânico de calos alternativos (DCMAC) para os alvos da linhagem CaCo-2

Extrato	GI ₅₀ (µg/mL)	Classes	Caco-2		ChemPLP	
			Compostos	VEGFR2	FGFR2	β-catenina
DCMAC	213	Ácido fenólico	Ácido ferúlico	53,6305	52,6643	37,0993
			Ácido dihidroxibenzóico O-dipentósídeo	84,6335	72,9710	56,1034
			Ácido hidroxibenzóico hexose	77,3371	59,8812	43,6373
		Ácido carboxílico	Ácido cicloexano carboxílico	39,5961	33,8721	28,1810

CONCLUSÕES

Com bases nas análises de *docking* molecular dos metabólitos especializados do *C. hildmannianus*, frente aos alvos das células MCF-7, AGS e CaCo-2, observou-se que os valores de *score* corroboraram com os resultados experimentais já descritos, visto que os metabólitos mais bem pontuados foram aqueles presentes nos extratos mais ativos. Dentre os compostos avaliados, o ácido tianásico e ácido dihidroxibenzóico O-dipentósídeo foram os que apresentaram maiores valores de pontuação nos alvos ERα, HER-2 e VEGFR2, respectivamente. Os resultados obtidos sugerem que os compostos mais bem pontuados, dentro de cada extrato avaliado para cada célula, apresentam uma elevada probabilidade de se ligar a esses alvos moleculares. Esses resultados abrem novos caminhos para o entendimento dos prováveis alvos de ação dos metabólitos presentes no *C. hildmannianus* e compreender as razões moleculares para a sua ação farmacológica.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico e a Universidade Estadual de Maringá, pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

- JOHARI, Mas Athira; KHONG, Heng Yen. Total phenolic content and antioxidant and antibacterial activities of *Pereskia bleo*. **Advances in Pharmacological Sciences**, New York, v. 2019, p. 1-4, 2019.
- RUYCK, Jerome de *et al.* Molecular docking as a popular tool in drug design, an in silico travel. **Advances and Applications in Bioinformatics and Chemistry**, Auckland, v. 9, p. 1-11, 2016.
- SANTOS, Éverton da Silva *et al.* Low-cost alternative for the bioproduction of bioactive phenolic compounds of callus cultures from *Cereus hildmannianus* (K.) Schum. **Journal of Biotechnology**, New York, v. 356, p. 8-18, 2022.

SINGH, Dev Bukhsh; PATHAK, Rajesh Kumar; RAI, Dipti. From traditional herbal medicine to rational drug discovery: strategies, challenges, and future perspectives. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v. 32, p. 147-159, 2022.