



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÂNICA E INORGÂNICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

ANTÔNIO MARCELO ALVES LIMA

**ESTUDO *IN SILICO* DE DERIVADOS SEMISSINTÉTICOS DA ESTEMODINA E
OBTENÇÃO DE UM COMPOSTO MAIS ATIVO NO CONTROLE DE LINHAGEM
DE CÉLULAS DE CARCINOMA DE CÓLON HUMANO (HCT-116)**

FORTALEZA

2024

ANTÔNIO MARCELO ALVES LIMA

ESTUDO *IN SÍLICO* DE DERIVADOS SEMISSINTÉTICOS DA ESTEMODINA E
OBTENÇÃO DE UM COMPOSTO MAIS ATIVO NO CONTROLE DE LINHAGEM DE
CÉLULAS DE CARCINOMA DE CÓLON HUMANO (HCT-116)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Química.
Áreas de concentração: Química Orgânica e Química Computacional.

Orientador: Prof. Dr. Jair Mafezoli.
Coorientador: Prof. Dr. Fco. Geraldo Barbosa.

FORTALEZA

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- L696e Lima, Antônio Marcelo Alves.
Estudo in silico de derivados semissintéticos da estemodina e obtenção de um composto mis ativo no controle de linhagem de células de carcinoma de cólon humano (HCT-116) / Antônio Marcelo Alves Lima. – 2024.
74 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Programa de Pós-Graduação em Química, Fortaleza, 2024.
Orientação: Prof. Dr. Jair Mafezoli.
Coorientação: Prof. Dr. Francisco Geraldo Barbosa.
1. estemodina. 2. estudo in silico. 3. atividade anticancerígena. I. Título.

CDD 540

ANTÔNIO MARCELO ALVES LIMA

ESTUDO *IN SIVADOS* SEMISSINTÉTICOS DA ESTEMODINA E OBTENÇÃO DE UM
COMPOSTO MAIS ATIVO NO CONTROLE DE LINHAGEM DE CÉLULAS DE
CARCINOMA DE CÓLON HUMANO (HCT-116)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Química.

Áreas de concentração: Química Orgânica e Química Computacional.

Aprovada em: 19/02/2024

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Jair Mafezoli (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Francisco Geraldo Barbosa (Co-orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Marcos Carlos de Mattos
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dra. Maria Teresa Salles Trevisa
Universidade Federal do Ceará (UFC)

AGRADECIMENTOS

Às instituições Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP) e Fundação Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro na manutenção da bolsa de estudos.

Aos professores Dr. Jair Mafezoli e Dr. Francisco Geraldo Barbosa, pela orientação, pelo apoio e pela oportunidade de estudar e desenvolver uma pesquisa no âmbito da Química Computacional Medicinal aplicada a compostos orgânicos no tratamento de patologias.

Aos professores participantes da banca examinadora Dr. Marcos Carlos de Mattos e Dr^a. Maria Teresa Salles Trevisan pelo tempo, pelas valiosas colaborações e sugestões.

Ao Laboratório de Fitoquímica Aplicada (LABFito) pela disponibilização de espaço e recursos para a realização da pesquisa.

Ao Centro Nordestino de Aplicação e Uso da Ressonância Magnética Nuclear (CENAUREMN), pela contribuição na construção dessa pesquisa.

Ao Programa de Pós Graduação em Química (PGQuim) pela gerência e coordenação e por proporcionar a oportunidade de expandir meus conhecimentos e habilidades.

À minha família e amigos, em especial, Alano da Silva Ramalho, Helyson Lucas Bezerra Braz, Ingrid Mayara da Cunha Brito e Ivynna Suellen Justino Vidal, pelo notório companheirismo durante essa etapa significativa.

RESUMO

A espécie *Stemodia maritima* Linn (Plantaginaceae), popularmente conhecida como matruz-bravo ou melosa, apresenta o diterpeno estemodina como principal constituinte químico, para o qual são relatadas propriedades antibióticas, antitumorais, antimetabólicas, antivirais e anti-inflamatórias. Análogos oxímicos da estemodina demonstraram potencial anticancerígeno, inclusive, para linhagens de células de carcinoma de cólon humano (HCT-116). De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), o câncer colorretal é o terceiro tipo de câncer mais comum no mundo e segunda principal causa de morte por câncer. Diante dessa problemática, realizou-se um estudo *in silico* da atividade anticancerígena de derivados oxímicos da estemodina com base nos resultados *in vitro*, com objetivo de desenvolver um novo análogo da estemodina com maior potencial bioativo. Esse estudo analisou a via metabólica das enzimas *PI3K* como estratégia terapêutica do controle de células cancerígenas. A inibição de *PI3K* auxilia na regulação do crescimento celular e induz a morte programada das células cancerígenas. A presença de regiões de interações alquílicas, pi-alquílicas e pi-pi em forma de T e análise de aromaticidade no sítio ativo da macromolécula possibilitaram a projeção de um derivado estemodano benzoilado (STEM-Bz). A atividade anticancerígena de STEM-Bz foi simulada *in silico* por meio de docagem molecular, apresentando a formação de um complexo mais estável de baixa energia ($-9,32 \pm 0,03$ kcal.mol⁻¹). O IC₅₀ simulado para o derivado benzoilado foi de 14,69 µM, não revelando toxicidade. O perfil farmacocinético apresentou propriedades ideais de absorção, distribuição, metabolismo e excreção no organismo humano. Desta forma, o derivado semissintético STEM-Bz foi obtido a partir de uma abordagem *in silico* aplicada à Química Medicinal Computacional e terá sua atividade *in vitro* avaliada.

Palavras-chave: estemodina; estudo *in silico*; atividade anticancerígena.

ABSTRACT

The species *Stemodia maritima* Linn (Plantaginaceae), popularly known as matruz-bravo or melosa, has the diterpene stemodine as its main chemical constituent, for which antibiotic, antitumor, antimitotic, antiviral and anti-inflammatory properties are reported. Oximic analogues of stemodin have demonstrated anticancer potential, including for human colon carcinoma cell lines (HCT-116). According to the World Health Organization (WHO), colorectal cancer is the third most common type of cancer in the world and the second leading cause of death from cancer. Faced with this problem, a *in silico* study of the anticancer activity of the oximic derivatives of stemodin was carried out in comparison with the *in vitro* results, with the aim of developing an analogue of stemodin with greater bioactive potential. This study analyzed the metabolic pathway of *PI3K* enzymes as a therapeutic strategy for controlling cancer cells. Inhibition of *PI3K* helps regulate cell growth and induces programmed death of cancer cells. The presence of regions of alkyl, pi-alkyl and pi-pi T-shaped interactions and aromaticity analysis in the active site of the macromolecule made it possible to design a benzoylated stemodane derivative (STEM-Bz). The anticancer activity of STEM-Bz was simulated *in silico* through *molecular docking*, showing the formation of a more stable, low-energy complex (-9.32 ± 0.03 kcal.mol⁻¹). The simulated IC₅₀ for the benzoylated derivative was 14.69 μM, revealing no toxicity. The pharmacokinetic profile showed ideal absorption, distribution, metabolism and excretion properties in the human body. In this way, the semi-synthetic derivative STEM-Bz was obtained from *in silico* approach applied to Computational Medicinal Chemistry and will have its *in vitro* activity evaluated.

Keywords: stemodin; *in silico* study; anticancer activity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Esqueleto químico estemodano.....	13
Figura 2– Estrutura da estemodina e afidicolina.....	13
Figura 3 – Espécie <i>Stemodia maritima</i> em habitat natural.....	18
Figura 4 – Estruturas químicas relatadas em <i>S. maritima</i>	20
Figura 5 – Derivados estemodanos semissintetizados por LAMM <i>et al.</i> , 2006.....	24
Figura 6 – Derivados estemodanos semissintetizados por BORGES <i>et al.</i> , 2009.....	24
Figura 7 – Derivados estemodanos semissintetizados por RUSSEL <i>et al.</i> , 2011.....	25
Figura 8 – Derivados estemodanos semissintetizados por OLIVEIRA <i>et al.</i> , 2024.....	26
Figura 9 – Derivados da estemodina sintetizados por SILVA (2017).....	27
Figura 10 – Via enzimática de <i>PI3K/AKT</i> na formação de tumores e cânceres.....	29
Figura 11 – Modelo chave-fechadura.....	31
Figura 12 – Procedimento de <i>docking molecular</i>	33
Figura 13 – Esquema geral de obtenção de STEM-Bz (74).....	38
Figura 14 – Mapa de Interactomas do câncer colorretal.....	39
Figura 15 – Mapa 2D das interações do complexo 7R9V-1.....	42
Figura 16 – Análise de hidrofobicidade do complexo 7R9V-1.....	44
Figura 17 – Mapas 2D dos complexos 7R9V-58 e 7R9V-63, respectivamente.....	44
Figura 18 – Análise de pontes de Hidrogênio nos complexos 7R9V-58 e 7R9V-63.....	45
Figura 19 – Mapas 2D das interações dos complexos 7R9V-59 a 7R9V-62.....	48
Figura 20 – Mapa 2D das interações do complexo 7R9V-74.....	51
Figura 21 – Análise de aromaticidade do complexo 7R9V-74.....	51
Figura 22 – Estrutura química de STEM-Bz (74).....	60
Figura 23 – Espectro de RMN de ¹ H de STME-Bz (74) (CDCl ₃ /500 MHz).....	60
Figura 24 – Espectro de RMN de ¹³ C de STME-Bz (74) (CDCl ₃ /500 MHz).....	61
Figura 25 – Espectro de RMN 2D ¹ H- ¹³ C HMQC de STME-Bz (74) (CDCl ₃ /500 MHz).....	61
Figura 26 – Espectro de RMN 2D ¹ H- ¹³ C HMQC de STME-Bz (74) (CDCl ₃ /500 MHz).....	62

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Grau de nós do mapa de Interactomas do câncer colorretal.....	40
Tabela 2 – Ontologia genética dos processos biológicos de <i>PI3Kα</i>	41
Tabela 3 – Interações do complexo 7R9V-1.....	42
Tabela 4 – Interações do complexo 7R9V-74.....	50
Tabela 5 – Análise da relação estrutura atividade <i>in silico</i> e <i>in vitro</i>	52
Tabela 6 – ados farmacocinéticos de estemodano 74.....	53
Tabela 7 – Avaliação de toxicidade do estemodano 74.....	57

LISTA DE ABREVIATURAS

<i>AKT</i>	<i>A Serine/Threonine Protein Kinase ou Protein Kinase B</i>
<i>FDR</i>	<i>False discovery rate</i>
<i>MPO</i>	<i>Maximum Pharmacological Outcome</i>
<i>PI3K</i>	<i>Phosphatidylinositol 3-Kinase</i>
<i>PI3Kα</i>	<i>Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-Kinase catalytic subunit alpha</i>
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
STEM	Estemodina
STEM-Bz	Benzoilado da estemodina
<i>WHO</i>	<i>World Health Organization</i>

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	OBJETIVOS	16
2.1	Objetivo Geral	16
2.2	Objetivos Específicos	16
3	REFERENCIAL TEÓRICO	17
3.1	Sobre o gênero <i>Stemodia</i>	17
3.2	Sobre a espécie <i>Stemodia maritima</i>	18
3.3	Composição química da <i>Stemodia marítima</i>	19
3.4	Derivados semissintéticos da estemodina	23
3.5	Propriedades biológicas de derivados estemodanos	27
3.6	Câncer Colorretal	28
3.7	Via PI3K/AKT na progressão do câncer colorretal	28
3.8	Relação estrutura-atividade	30
3.9	Metodologias de avaliação <i>in silico</i>	30
3.9.1	Mapa de interactomas.....	32
3.9.2	<i>Docking molecular</i>	32
3.9.3	Perfil farmacocinético e toxicidade <i>in silico</i>	34
4	METODOLOGIA	35
4.1	Construção de mapa de interactomas	35
4.2	Estudo de <i>docking molecular</i>	35
4.3	Avaliação farmacocinética <i>in silico</i> e potencial toxicidade	36
4.4	Obtenção de estemodina	37
4.5	Benzoilação de estemodina	37
4.6	Caracterização química do novo derivado estemodano	38
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
5.1	Análise do Mapa de interactomas	39
5.2	Dados do estudo de <i>docking molecular</i>	42
5.3	Análise de perfil farmacocinético e de toxicidade	52
5.4	Obtenção de STEM-Bz	59
5.5	Caracterização de STEM-Bz (74)	59
6	CONCLUSÃO	63
	REFERÊNCIAS	64

1. INTRODUÇÃO

As propriedades terapêuticas de recursos naturais para a manutenção da saúde foi e continua sendo uma prática comum. Dentre a variedade de produtos naturais, as plantas medicinais são amplamente utilizadas e conhecidas por desempenhar um papel importante na terapia e tratamento de doenças (VIANA e RAMOS, 2019). No que se refere ao Brasil, a abrangência de produtos fitoterápicos é notória. Conforme Flório (2019), mais de 90% da população faz usos de fitoterápicos no tratamento de doenças.

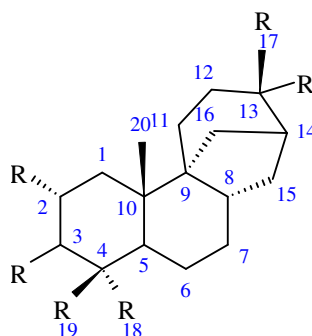
As plantas medicinais apresentam uma variedade de substâncias químicas bioativas, formadas por diferentes arranjos estruturais e desempenham papel importante no desenvolvimento científico (BRAHMACHARI, 2018). Como exemplos pode-se citar os alcaloides, terpenoides e compostos fenólicos, que se destacam na literatura por apresentarem atividades biológicas importantes (MATHUR e HOSKINS, 2017; MONTEIRO e BRANDELLI, 2018; SIMÕES, 2017).

A estratégia de obtenção de derivados semissintéticos, a partir de metabólitos bioativos isolados de plantas, é uma importante ferramenta de pesquisa e inovação para obtenção de moléculas com propriedades farmacológicas potencializadas (OTLES e OZYURT, 2021).

Neste contexto, este trabalho envolve o estudo da espécie *Stemodia maritima*, popularmente conhecida como melosa ou matruz-brabo. A espécie *S. maritima* é bastante dispersa no Nordeste brasileiro, se desenvolvendo em regiões de estuários, apresentando propriedades antivirais, antifúngicos e antibacterianos (OLIVEIRA, 2021). Outros estudos ainda reportam atividades como biocontroladora (ARRIAGA *et al.*, 2017), antioxidante (SILVA *et al.*, 2014) e citotóxica (TEIXEIRA *et al.*, 2017).

S. maritima é constituída, principalmente, por diterpenos da classe dos estemodanos. Os estemodanos, representados na Figura 1, apresentam um esqueleto tetracíclico composto por um sistema [3.2.1] octano e um sistema de anéis policíclicos de estereoquímica *trans* fundidos.

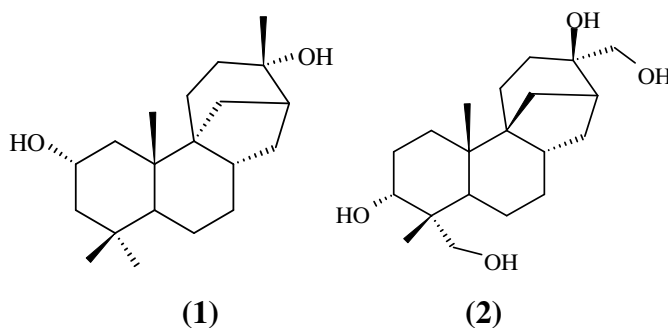
Figura 1: Esqueleto químico estemodano



Fonte: Elaborado pelo Autor (2024)

A estemodina (1) é o principal estemodano ativo extraído de *S. Maritima*. A estemodina apresenta similaridade estrutural com a afidicolina (2), como apresentado na Figura 2, cujas atividades citotóxicas e anticancerígenas são relatadas na literatura. Devido à toxicidade acentuada da afidicolina, a estemodina se tornou um potencial alvo de pesquisa (GOMEZ-GALENO *et al.*, 2021).

Figura 2: Estrutura da estemodina e afidicolina



Fonte: Elaborado pelo autor (2024)

Transformações químicas na estrutura da estemodina são estudadas para potencializar a atividade citotóxica e anticancerígena da substância. Derivados oxímicos da estemodina produzidos por Oliveira e colaboradores (2024) apresentaram relativa atividade anticancerígena no controle de linhagens de células mutagênicas, dentre as quais destaca-se a inibição de células HCT-116, linhagem de células de câncer colorretal (TUBA; SERDAR e BETUL, 2022).

O câncer colorretal é o terceiro tipo de câncer mais comum no mundo, representando aproximadamente 10% de todos os casos de câncer; sendo a segunda principal causa de mortes relacionadas ao câncer em todo o mundo. O câncer colorretal é frequentemente

diagnosticado em estágios avançados, quando as opções de tratamento são limitadas (WHO, 2023).

Uma estratégia para o tratamento e remissão do câncer colorretal se dá pela obtenção e desenvolvimento de novas substâncias bioativas. Com auxílio da química computacional medicinal, novas substâncias foram desenvolvidas através de estudos *in silico*, com propriedades farmacêuticas aprimoradas e toxicidade reduzida (HOLANDA, 2021), envolvendo principalmente como alvo as enzimas *PI3K*, que, por regulação da via leva à morte celular por apoptose (SANAEI *et al.*, 2021).

O emprego da química computacional medicinal promoveu a elucidação de mecanismos fisiopatológicos e farmacológicos, que auxiliou no melhor entendimento do processo de reconhecimento molecular e das propriedades farmacocinéticas e toxicológicas de candidatos a fármacos (MELQUIDE *et al.*, 2024). Os estudos da relação estrutura-atividade promovidos pela química computacional medicinal são úteis para compreender e justificar o mecanismo de ação de substâncias bioativas em nível molecular e permite o desenvolvimento de novos compostos com propriedades biológicas desejáveis (HOFFMAN e GASTREICH, 2019). Assim, os estudos da relação estrutura-atividade tornam-se essenciais em projetos de desenvolvimento e caracterização de substâncias bioativas. A predição e avaliação do potencial biológico de novos compostos, usando relações matemáticas baseadas em propriedades estruturais, físico-químicas e conformacionais de compostos previamente testados, tem grande relevância na descoberta de novos compostos bioativos (YANG *et al.*, 2020).

O uso de ferramentas computacionais como ancoragem molecular (*docking molecular*), dinâmica molecular, desejabilidade MPO (*Maximum Pharmacological Outcome*) de funções ADME (Absorção, Distribuição, Metabolismo e Excreção) estimativas, locais de metabolismo, predição de propriedades físico-químicas, aplicadas a compostos orgânicos para avaliar e caracterizar atividades biológicas, vem crescendo exponencialmente (SINGH e BHARADVAJA, 2021).

Com o advento de novas tecnologias, abordagens e metodologias usadas durante o planejamento e caracterização de substâncias bioativas alteraram-se com o decorrer dos anos. Com o aumento de estudos que utilizam produtos naturais como fontes de moléculas com atividade biológica e de triagens biológicas automatizadas em alta escala, o uso de técnicas computacionais já pode ser considerado como parte essencial do desenvolvimento em vários estágios do processo de planejamento e descoberta de um novo composto *hit* (ZIMMERMANN, 2018; HOFFER *et al.*, 2018).

Diante dessa perspectiva, essa pesquisa teve como principal objetivo o estudo *in silico* da atividade anticancerígena dos derivados oxímicos da estemodina em comparação com os resultados *in vitro* descritos por Oliveira e colaboradores (2024), no desenvolvimento de um análogo da estemodina com maior potencial bioativo. O alvo dos estudos envolveu as enzimas PI3K, presentes nas células de carcinoma de cólon humano (HCT-116).

2. OBJETIVOS

2.1 – Objetivo Geral

Realizar estudos *in silico* de derivados semissintéticos da estemodina e obter um composto mais ativo no controle de linhagem de células de carcinoma de cólon humano (HCT-116).

2.2 – Objetivos Específicos

- Avaliar mecanismos de progressão de câncer colorretal através de biologia de redes e análise de ontologia gênica;
- Avaliar o potencial anticâncer *in silico* de estemodanos a fim de justificar as propriedades por meio da relação de esqueleto, função e interações intermoleculares promovidas com sítio ativo do alvo molecular;
- Projetar um novo composto bioativo estemodano com propriedades mais acentuadas na regressão do câncer colorretal e idealidade de perfis farmacocinético e tóxico;
- Isolar e purificar estemodina de *Stemodia maritima*;
- Obter novo derivado bioativo da estemodina.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Sobre o gênero *Stemodia*

Representada por ervas e arbustos, é um gênero de plantas de florescência, perenes com folhas simples, dentadas, sésseis, com filotaxia opostas cruzadas e presença de tricomas, possui inflorescência em cachos, com flores em tom lilás (CHAMY *et al.*, 1991; HASSLER, 2018 *caput* ROSKOV *et al.*, 2018).

O gênero *Stemodia* pertence à família Plantaginaceae e é representado por cerca de 127 espécies distribuídas na Ásia, África, Austrália e Américas. Destas espécies, apenas oito têm sido previamente estudadas: *S. chilensis*, *S. durantifolia*, *S. foliosa*, *S. grossa*, *S. kingii*, *S. maritima*, *S. trifoliata* e *S. viscosa* (CHAMY *et al.*, 1991; SILVA *et al.*, 2009).

O estudo químico destas espécies tem apresentado diversas classes de metabólitos secundários, como flavonoides isolados de *S. viscosa* (RAMESH; NAIR e SUBRAMANIAN, 1979) diterpenos labdanos derivados do óxido de manoilá, encontrados em *S. trifoliata* e *S. foliosa* (SILVA *et al.*, 2009) diterpenos com esqueletos estemodano, estemarano e abietano encontrados nas espécies *S. chilensis* e *S. maritima* (CHAMY *et al.*, 1991).

Além destes, *S. kingii* é encontrada na Austrália e considerada uma planta tóxica, tendo sido responsável pela morte de ovinos e caprinos anualmente. O estudo químico desta espécie confirmou a presença de duas toxinas, os estemodinosídeos B3 e B4, definidos como glicosídeos esteroidais curcubitano (ALLEN e MITCHELL, 1998).

S. grossa era tradicionalmente usada por povos aborígenes australianos para o tratamento do reumatismo, dor de cabeça e resfriados, embora esta espécie não tenha sido quimicamente estudada (SWEENEY *et al.*, 2001). *S. durantifolia* também não apresentou relatos de seu estudo químico, embora no Haiti seja usada como agente antifertilidade (WENIGER; HAAG-BERRURIER e ANTON, 1982).

O estudo das espécies do gênero identificou algumas classes de metabólitos secundários, como compostos fenólicos, flavonoides, triterpenos esteroidais, curcubitacinas, esteroides glicosilados e diterpenos (RODRIGUES *et al.*, 2010; SILVA *et al.*, 2008; SILVA; SILVEIRA e PESSOA, 2010).

O gênero *Stemodia* é rico em compostos diterpenos denominados estemodanos (Figura 1) cuja estrutura apresenta um esqueleto tetracíclico composto por um sistema [3.2.1] octano e um sistema de anéis policíclicos de estereoquímica *trans* fundidos (JIN *et al.*, 2021).

3.2 Sobre a espécie *Stemodia marítima*

A espécie *Stemodia marítima* Linn (Figura 3), popularmente conhecida como matruz-bravo ou melosa (SILVA *et al.*, 2006), pode ser encontrada em países da América do Sul e em ilhas do Caribe. *S. marítima* Linn pertence à família Plantaginaceae (tradicionalmente o gênero *Stemodia* era classificado na família *Scrophulariaceae*).

Figura 3: Espécie *Stemodia marítima* em habitat natural



Fonte: https://www.flickr.com/photos/plants_of_russian_in_brazil/15015148887/in/photostream/

Cresce selvagem no nordeste do Brasil próximo ao mar. É uma planta perene, isto é, uma planta que sobrevive por mais de um ciclo sazonal. Apresenta pequeno porte, constituída de ramificações em toda extensão de seu caule revestidas por pilosidade esbranquiçada. Os ramos são eretos com folhas dentadas, simples e opostas. Fruto é seco e do tipo capsular. As sementes são pequenas e numerosas e os racemos de flores são axilares e apresentam colorações que variam do esbranquiçado ao violeta (CHAMY, 1991).

A *S. marítima* Linn tem sido amplamente utilizada na medicina popular para o tratamento de doenças sexualmente transmissíveis, gastralgia, edema e inflamações. Por sua vasta aplicabilidade no tratamento de enfermidades, a planta também é conhecida como “a força do homem pobre” (HUFFORD *et al.*, 1991).

Além disso, as folhas e o caule, possuem atividade antiviral, citotóxica, larvicida e bactericida (RODRIGUES *et al.*, 2010; SILVA, 2013). Óleos essenciais obtidos a partir de folhas e flores de *S. marítima* apresentaram potencial atividade larvicida e praguicida no combate ao desenvolvimento do *Aedes aegypti* (ARRIAGA *et al.*, 2007).

Em estudos realizados com compostos obtidos do extrato etanólico das folhas e raízes de *S. maritima* Linn, constatou-se importantes atividades anti-inflamatória e antioxidante do metabólito crenatosídeo (SILVA *et al.*, 2014).

Outros metabólitos, tais como a estemodina e estedinodisídeo B apresentaram-se como agentes antimicrobianos apreciáveis, no controle de bactérias de tipo *Escherichia*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Vibrio*, *Listeria* e *Aeromonas* (SILVA *et al.*, 2014).

O extrato etanólico das folhas de *S. maritima* Linn apresentou atividade anti-inflamatória promissora no combate ao estresse oxidativo e reabsorção óssea em ensaios *in vivo* contra periodontite, possibilitando concentração dos níveis de citocina no tecido gengival (TEIXEIRA *et al.*, 2017).

O efeito neurofarmacológico e a avaliação do estresse oxidativo também foram estudados em estudo *in vivo*. Como resultado concluiu-se que o extrato dessa planta atua como antidepressivo, ansiolítico e sequestrador de radicais livres, cuja, atividade depende da dose administrada e área analisada (SOUSA, 2017).

Alguns estudos denotam sobre uma potencial atividade hidropísica, gastroenteral e intramuscular da *S. marítima* em sua capacidade para restituição do tecido e diminuição do estresse oxidativo causado por desenvolvimento de radicais livres (SILVA *et al.*, 2006).

3.3 Composição química da *Stemodia marítima*

Muitos metabólitos têm sido relatados para *Stemodia*, onde os principais compreendem a compostos pertencentes à classe diterpenoides. Os estudos iniciais sobre a constituição fitoquímica desta planta teve início em 1973, a partir da investigação do extrato etanólico das folhas desta espécie, realizadas por Manchand e colaboradores. Neste estudo, foram identificados e caracterizados dois diterpernos tetracíclicos incomuns, estemodina (**1**) e estemodinona (**3**) (MANCHAND *et al.*, 1973). Posteriormente, estemarina (**4**) (MANCHAND e BLOUNT, 1975); maritimol (**5**) e estemodinol (**6**) também foram identificados (HUFFORD; GUERRERO e DOORENBOS, 1976). A estrutura desses compostos pode ser observada na Figura 4.

Ao longo dos anos, outros metabólitos foram sendo identificados nas diversas partes da planta, como demonstrado na Figura 4. Entre estes incluem-se; estemolídeo (**7**), triptolídeo (**8**), triptiolídeo (**9**) (MANCHAND e BLOUNT, 1976); 2-desoxi-estemodina (**10**) (KELLY *et al.*, 1983); maristeminol (**11**), estemodinosídeo A (**12**), estemodinosídeo B (**13**), (HUFFORD; OGUNTMEIN e MUHAMMAD, 1992); (5S*,8S*,9R*,10S*)- 11 β ,12 β -epoxi-9- α -hidroxi-19(4 \rightarrow 3)abeo-abieta-3,13-dieno-9,18-olídeo (**14**) 5,7,4-triidroxi3,8,3' -trimetoxi-

flavona (**15**), glucopiranosilstigmasterol (16), 3 β -O-D-glucopiranosil- β -sitosterol (**17**) e 5,7,4-triidroxi-8,3'-dimetoxi-flavona (**18**) (RODRIGUES *et al.*, 2010); isocrenatosídeo (**19**), verbascosídeo (**20**), crenatosídeo (**21**), isoverbascosídeo (**22**) (SILVA *et al.*, 2014).

Silva e colaboradores (2014) também relataram a presença de jaceidina (**23**) em *S. maritima*, uma flavanona que apresenta atividade antioxidante e antibacteriana (ALLISON *et al.*, 2017).

Arriaga e colaboradores (2007) identificaram β -cariofileno (**24**), cariofila-4(14),8(15)-dien- α -ol (**25**) e 14-hidroxi-9-epi- β -cariofileno (**26**) em óleos essenciais extraídos a partir de folhas e flores de *S. maritima*, e associaram ao potencial da espécie em promover controle da propagação e desenvolvimento de *Aedes aegypti*, obtendo mensuráveis resultados para atividade larvicida e praguicida do vetor nos estágios larvais e adultos.

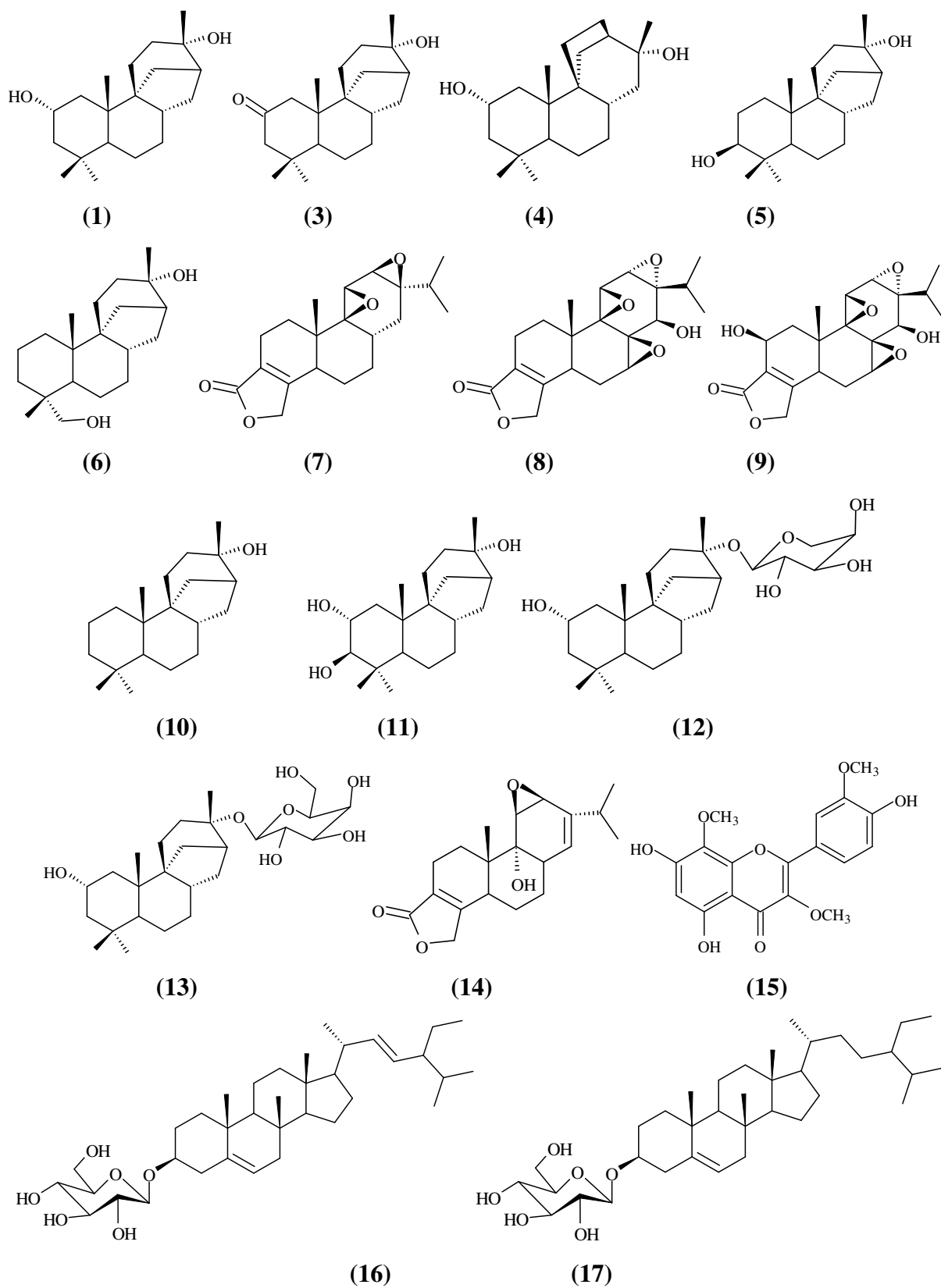
A estemodina (**1**) é o diterpeno estemodano mais relatado de *S. maritima*. Possui vários análogos hidroxilados obtidos por biotransformações microbianas, e alguns têm apresentado atividade antiviral (BUCHANAN e REESE, 2001). O Estemodinosídeo (**12** e **13**), outro composto extraído da *Stemodia maritima* Linn., apresenta atividade antibacteriana contra cepas de *Klebsiella pneumoniae* (CHEN *et al.*, 2016).

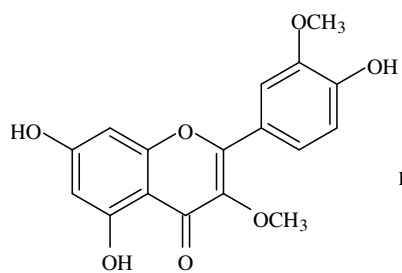
O crenatosídeo (**21**), obtido a partir das raízes de *S. maritima*, também apresenta atividade antioxidante (SILVA *et al.*, 2014). Além disso, crenatosídeo (**21**) e isocrenatosídeo (**19**) apresentam atividade antiviral, inibindo seletivamente a neuraminidase, que são cruciais para a replicação e infecciosidade de vírus (SILVA *et al.*, 2014; CHEN *et al.*, 2016).

Teixeira e colaboradores (2017) demonstraram que as folhas da *S. marítima* Linn possuem efeitos positivos no combate a perda óssea causada pela periodontite.

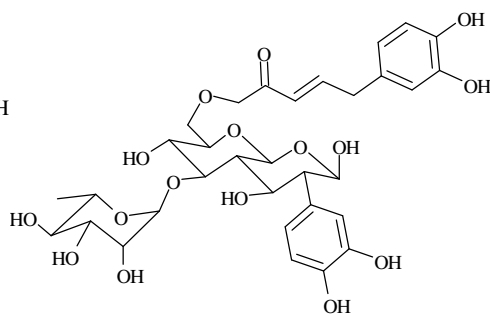
Azevedo (2019) comprovou efeitos antiinflamatórios e antinociceptivos da *Stemodia maritima* Linn e do composto estemodina no modelo de hipernocicepção inflamatória induzida por formalina.

Mais recentemente, a caracterização fitoquímica do extrato hexânico de *S. maritima* Linn, por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa, possibilitou a identificação de octadecanamida (1,19 %) (**27**), docosenamida (7,29 %) (**28**), esqualeno (2,29 %) (**29**), ácido mirístico (2,21 %) (**30**), ácido pentadecanóico (1,25 %) (**31**), 9-cedranona (1,76 %) (**32**), ácido palmítico (19,8 %) (**33**), ácido ascórbico (11,3 %) (**34**), ácido linoleico (31,0 %) (**35**) e ácido esteárico (18,7 %) (**36**) (SOUSA *et al.*, 2021).

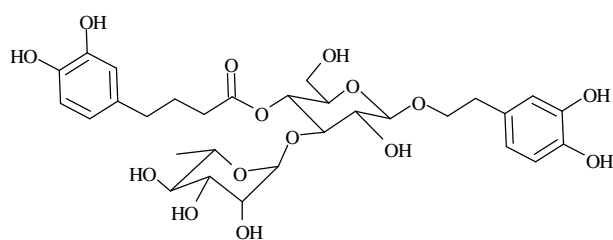
Figura 4: Estruturas químicas relacionadas em *S. maritima*.



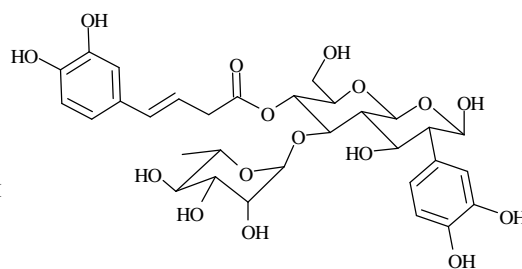
(18)



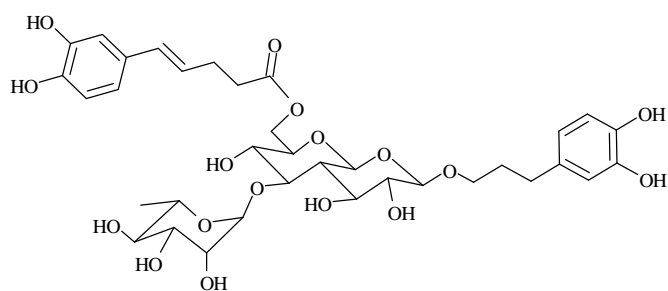
(19)



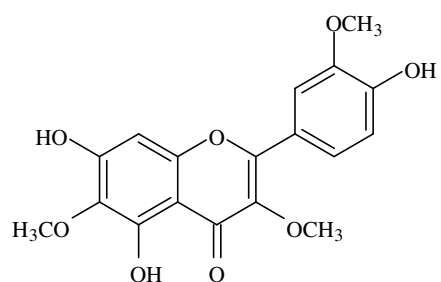
(20)



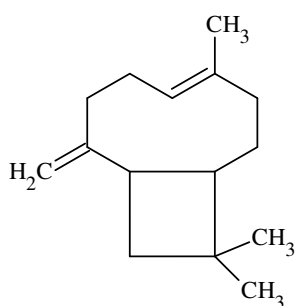
(21)



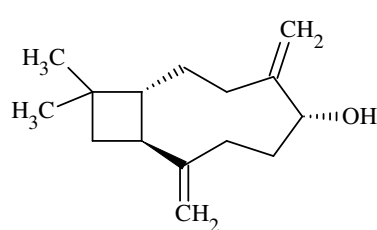
(22)



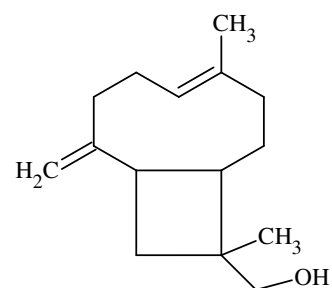
(23)



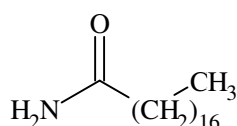
(24)



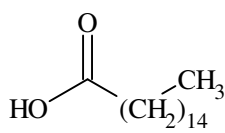
(25)



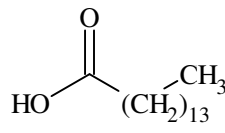
(26)



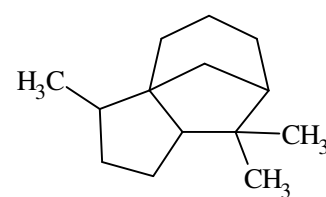
(27)



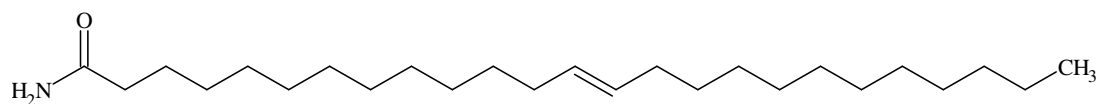
(30)



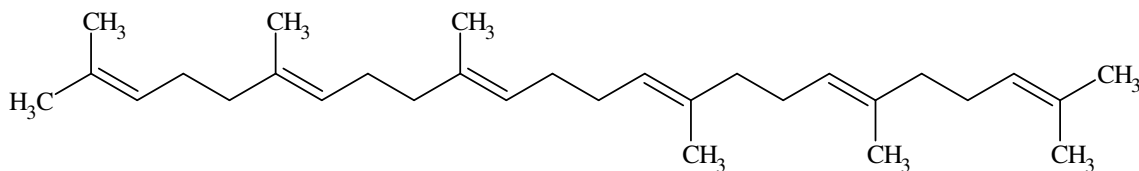
(31)



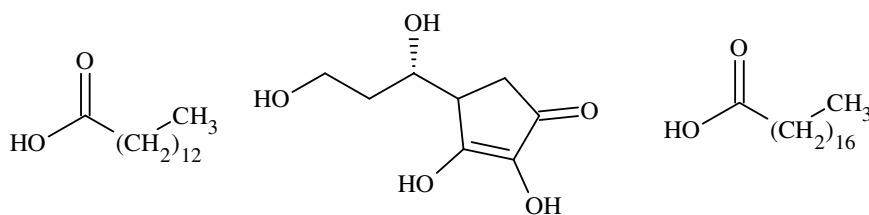
(32)



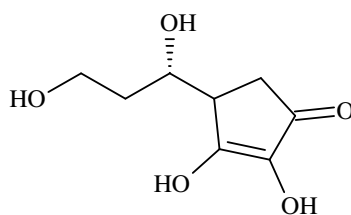
(28)



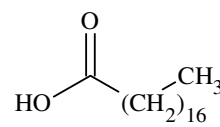
(29)



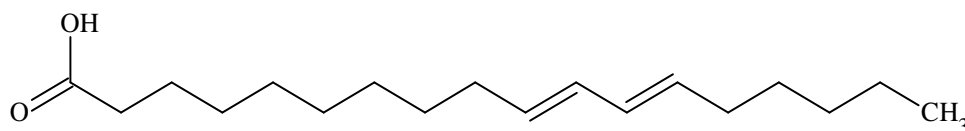
(33)



(34)



(36)



(35)

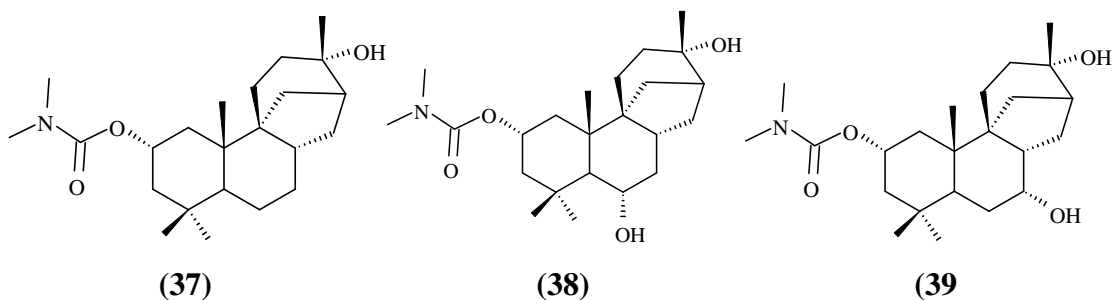
Fonte: Elaborado pelo Autor (2024)

3.4 – Derivados semissintéticos de estemodina

Com técnicas de separação e de identificação mais modernas, estes e outros constituintes químicos são isolados, descritos, podendo ser muitas vezes modificados estruturalmente para alterar ou potencializar suas atividades biológicas, conseguindo, assim, ter uma maior atividade desejada em menores doses que os compostos naturais inalterados, além de não serem muitas vezes rapidamente metabolizados (CRAGG e NEWMAN, 2013). Além disso, podendo interferir no custo de produção, eficiência de tempo, fácil controle de qualidade, regulamentação rigorosa (BRAZ-FILHO, 2010). Esse aprimoramento de moléculas inicialmente naturais tornando-se posteriores análogos é uma notável evolução na produção e inovação biotecnológica de fármacos (DAVID; WOLFENDER e DIAS, 2015).

Lamm e colaboradores (2006), através de processos de biotransformação usando *Cunninghamella echinulata* var. *elegans* e *Phanerochaete chrysosporium*, produziram carbamatos derivados da estemodina (37-39), como evidencia a Figura 5.

Figura 5: Derivados estemodanos semissintetizados por LAMM *et al.*, 2006



Fonte: Elaborado pelo autor (2024)

Processualmente, Borges e colaboradores (2009) também produziram derivados estemodanos (40-50) através de processos de biotransformação usando *Mucor plumbeus*, *Aspergillus niger* e *Fusarium moniliforme*, como descreve a Figura 6.

Figura 6: Derivados estemodanos semissintetizados por BORGES *et al.*, 2009.

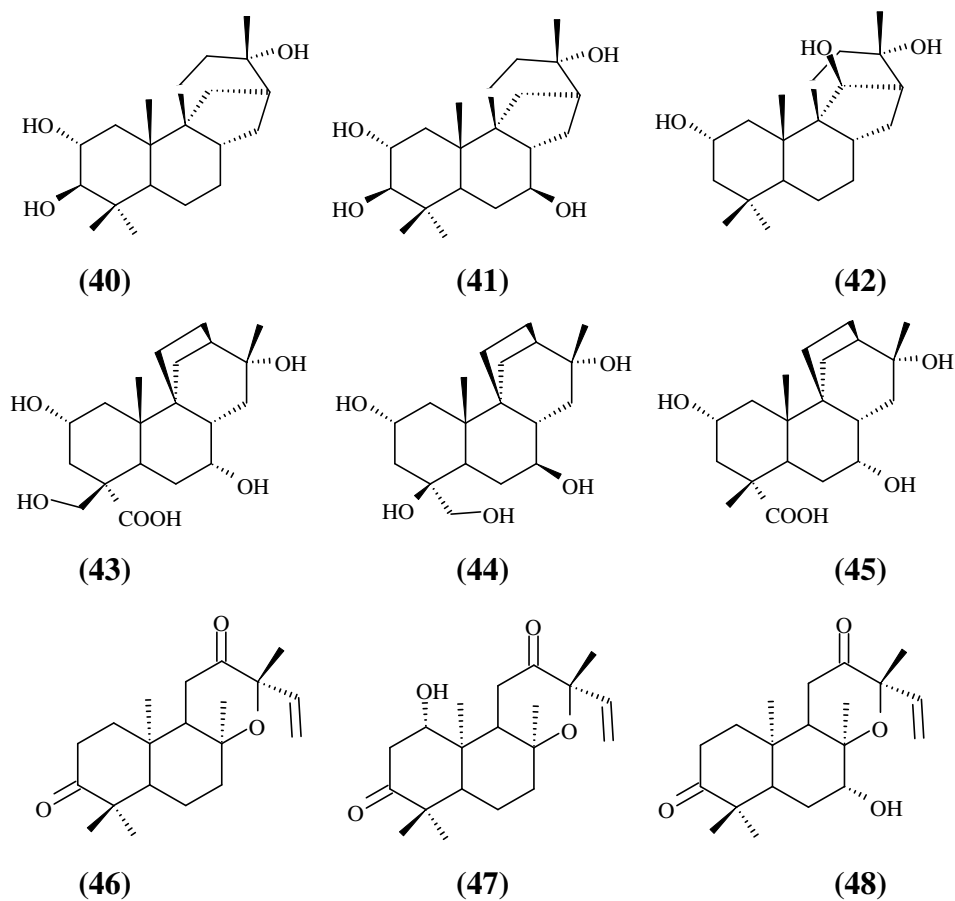
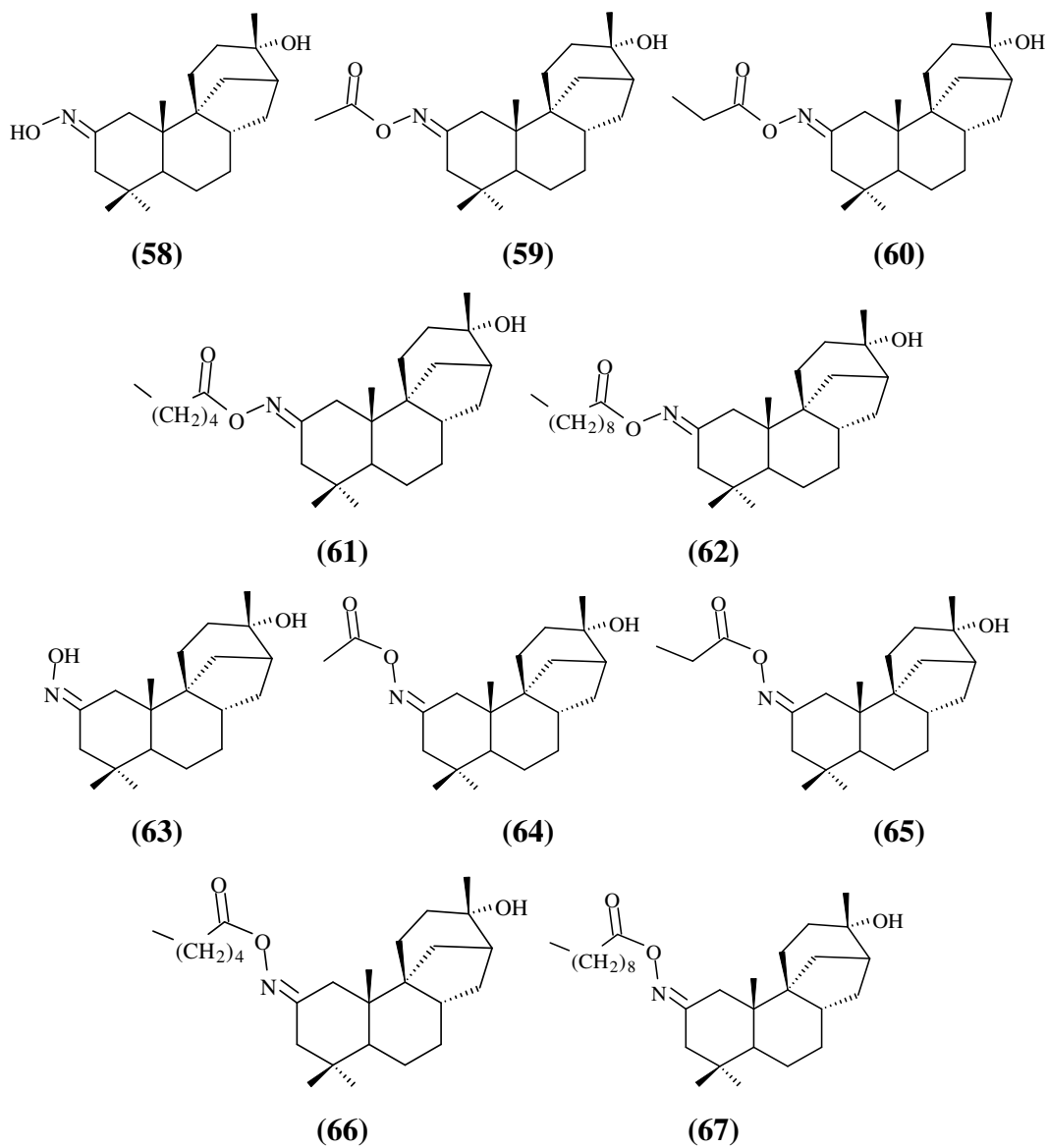


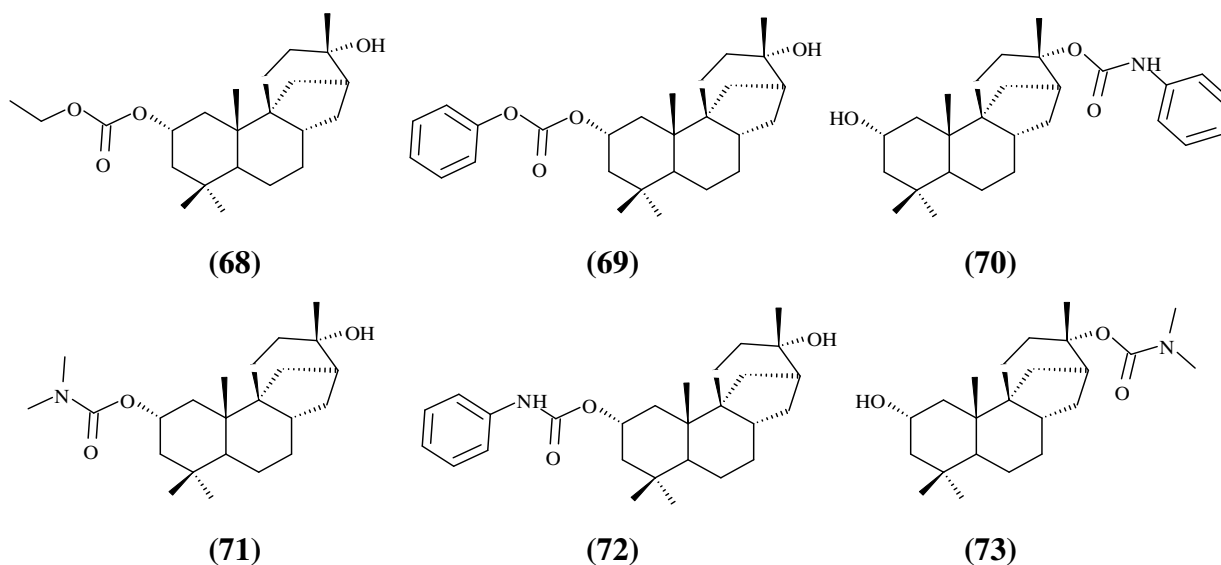
Figura 8: Derivados estemodanos semissintetizados por OLIVEIRA *et al.*, 2024



Fonte: Elaborado pelo autor (2024)

Silva (2017) apresenta ainda uma série de análogos carbonatos (68 e 69) e carbamatos de esstemodina (70-73), como representado na Figura 9.

Figura 9: Derivados da estemodina sintetizados por Silva (2017)



Fonte: Elaborado pelo Autor (2024)

3.5 – Propriedades biológicas de derivados estemodanos

O crescente interesse em estudos de derivados da estemodina se deu por causa dos efeitos aferidos à afidicolina. A afidicolina (**2**) é um composto diterpenóide tetracíclico produzido naturalmente por fungos como *Cephalosporium aphidicola*, que é caracterizado como um inibidor específico para DNA-polimerases da família B, incluindo Pol- α e Pol- δ (WRIGHT *et al.*, 1994). Como a inibição das DNA-polimerases pela afidicolina é reversível e interrompe o ciclo celular na fase G1/S, a afidicolina tem sido amplamente utilizado para sincronizar ciclos celulares em várias experimentos condições (DARZYNKIEWICZ *et al.*, 2011; SESSA *et al.*, 1991). Além da parada do ciclo celular, a afidicolina induz respostas a danos no DNA e morte celular em uma variedade de tipos de células cancerígenas (MATTHEW *et al.*, 2007; MORELAND *et al.*, 1999).

Em virtude do expressivo potencial da afidicolina e sua atividade citotóxica, estudos propuseram aplicação biológica de derivados estemodanos. Russell e colaboradores (2011) obtiveram resultados significativos quando avaliaram o potencial antiviral e citotóxico de derivados da estemodina quanto à peroxidação lipídica, enzima ciclooxigenase-1 (COX-1) e -2 (COX-2), e atividades inibidoras da proliferação de células tumorais.

Silva e colaboradores (2014) analisaram potencial citotóxico considerável de estemodina frente a linhagens de bactérias dos gêneros *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Bacillus* e *Escherichia*.

Oliveira e colaboradores (2024) avaliaram e compararam atividade biológica de estemodina e derivados oxímicos frente a linhagens de células cancerígenas, tendo resultados satisfatórios para a estemodina e derivados de *E*-estemoxima.

3.6 – Câncer colorretal

O câncer colorretal abrange uma gama de tumores malignos que afetam o intestino grosso e o reto (ARAGÃO *et al.*, 2022). Assim, podem se manifestar em qualquer extensão do órgão: em maior quantidade no cólon sigmóide (51%), cólon ascendente (16%), cólon descendente (10%), cólon transverso (9%), ceco (8%) e reto (6%). O câncer colorretal segue um padrão de desenvolvimento no qual apresenta-se como uma lesão benigna que evolui para uma neoplasia maligna. Nessa realidade, estima-se que este processo ocorra em torno de 10 a 15 anos (SILVA e ERRANTE, 2017).

As causas do câncer colorretal podem ser hereditárias ou adquiridas (MELLO *et al.*, 2020). O câncer colorretal se desenvolve devido a fatores genéticos que podem ser associados a fatores ambientais. Além disso, é ratificado que as chances para o seu desenvolvimento aumentam em indivíduos com parentes de primeiro grau diagnosticados com essa patologia. Por outro lado, o câncer colorretal adquirido representa a maioria dos casos e vincula-se ao acúmulo de mutações vitalícias (GASHTI *et al.*, 2021).

O câncer colorretal é o terceiro tipo de câncer mais comum no mundo, representando aproximadamente 10% de todos os casos de câncer; sendo a segunda principal causa de mortes relacionadas ao câncer em todo o mundo. O câncer colorretal é frequentemente diagnosticado em estágios avançados, quando as opções de tratamento são limitadas (WHO, 2023).

Estudos descrevem que a ativação anormal de *PI3K* como via de sinalização pode contribuir para o desenvolvimento e progressão do câncer colorretal. Mutações em genes que fazem parte dessa via, como *PIK3C α* (que codifica a subunidade catalítica alfa da *PI3K*), são encontradas em alguns casos de câncer colorretal (NARAYANANKUTTY, 2019).

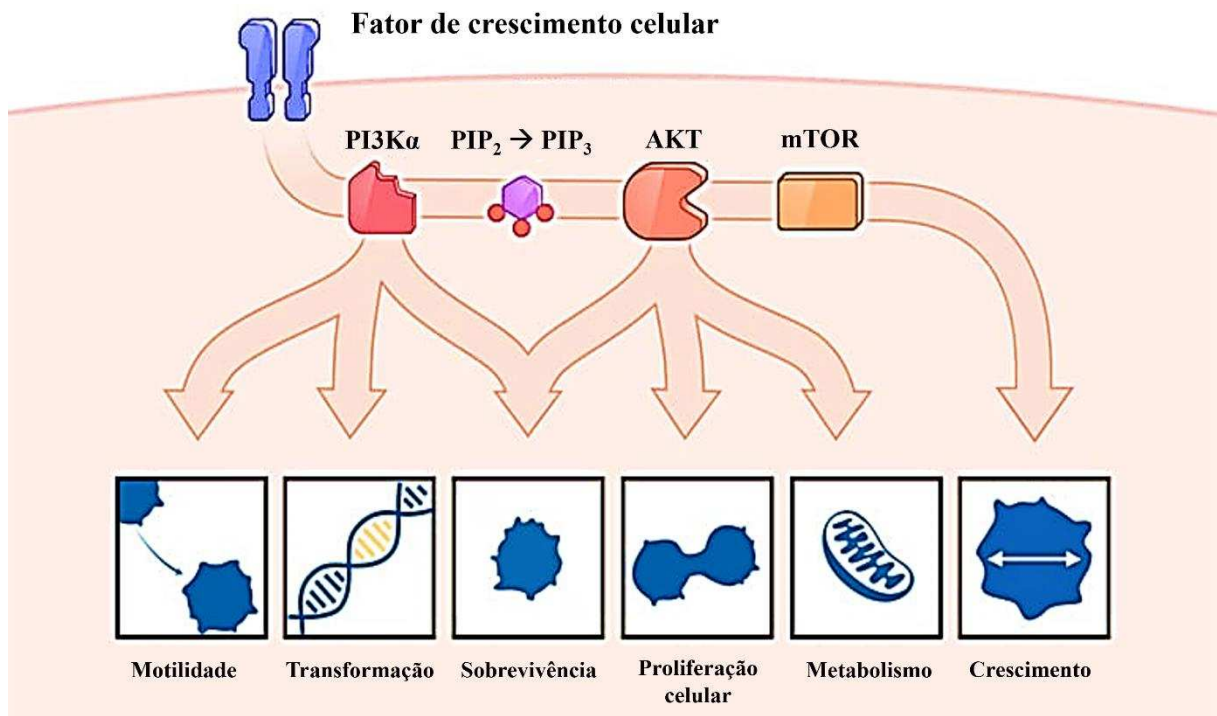
3.7 – Via *PI3K/AKT* na progressão do câncer colorretal

As enzimas *PI3*-cinase (*PI3K*) desempenham um papel crucial em vias de sinalização intracelular, especificamente na regulação do crescimento, proliferação, sobrevivência celular e mobilidade e envolvidas em doenças como cânceres, inflamações, patologias imunodeficientes e diabetes (RATHINASWAMY e BURKE, 2019). Estão

envolvidas principalmente na cascata de sinalização da fosfatidilinositol-3-cinase (BRESNICK e BACKER, 2019).

As enzimas *PI3*-cinase (*PI3K*) têm uma ligação substancial com o câncer colorretal devido ao seu papel central na regulação de vias de sinalização intracelular associadas ao crescimento e à sobrevivência celular. No contexto do câncer colorretal, as vias de sinalização mediadas por *PI3K* são frequentemente hiperativas. Isso pode ocorrer devido a mutações genéticas que resultam em uma ativação constante da *PI3K* ou a alterações em outros componentes da via que levam à ativação sustentada (NARAYANANKUTTY, 2019). A Figura 10 esquematiza a via de ação de *PI3K*.

Figura 10: Via enzimática de *PI3K/AKT* na formação de tumores e cânceros



Fonte: Elaborado pelo Autor (2024)

Conforme esquematizado na Figura 10, quando um receptor de membrana é ativado por um ligante, como um fator de crescimento, as *PI3K* são recrutadas para a membrana celular. A principal função das *PI3K* é catalisar a conversão do fosfatidilinositol 4,5-bifosfato (*PIP2*) em fosfatidilinositol 3,4,5-trifosfato (*PIP3*). O *PIP3* atua como um segundo mensageiro intracelular que recruta proteínas efetoras para a membrana, incluindo a proteína cinase *AKT* (XU *et al.*, 2020).

A ativação persistente da via de *PI3K* contribui para o crescimento celular descontrolado. O *PIP3*, produzido pela *PI3K*, recruta as proteínas *AKT* e *mTOR*. Por sua vez, desencadeia uma cascata de eventos que promovem a proliferação celular, inibem a apoptose e estimulam o metabolismo, favorecendo assim o crescimento tumoral (XU *et al.*, 2020).

Além do crescimento descontrolado, a ativação da via de *PI3K* também está associada à capacidade invasiva das células cancerígenas. Isso inclui a capacidade de invadir tecidos circundantes e, eventualmente, formar metástases em locais distantes do corpo (FATTAHI *et al.*, 2020).

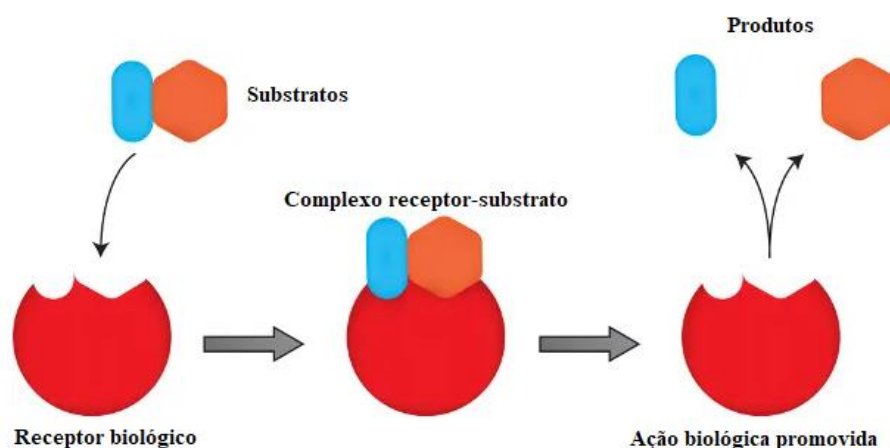
Ademais, a ativação persistente da via de *PI3K* pode contribuir para a resistência a certas terapias contra o câncer. Inibidores de *PI3K* são estudados como tratamentos potenciais para cânceres que exibem ativação anormal dessa via, incluindo o câncer colorretal (VITIELLO *et al.*, 2019).

3.8 – Relação estrutura-atividade

Forças intermoleculares determinam as interações de uma substância bioativa, como os derivados estemodanos com seu receptor biológico, ou seja, lipossolubilidade, polaridade e atividade eletrostática, assim sendo, substâncias que apresentam atividades biológicas, ao interagirem com um receptor orgânico específico (enzima, canal de íons, ácido nucléico ou qualquer outra macromolécula biológica), devem possuir uma conformação tridimensional de forma que as disposições de seus grupos funcionais favoreçam sua complementaridade bioquímica ao sítio de ligação (TECHIO e BELO, 2012).

Seguindo o modelo chave-fechadura, descrito na Figura 11, nesta interação quanto melhor o "encaixe" e a complementaridade das propriedades superficiais de um fármaco, maior será sua afinidade química ao receptor orgânico e maior poderá ser sua atividade biológica (BARREIRO e FRAGA 2001).

Figura 11: Modelo chave-fechadura



Fonte: Elaborado pelo autor (2024)

3.9 – Metodologias de avaliação *in silico*

Análises *in silico* têm sido amplamente usadas para analisar relações de modelo chave-fechadura da interação de um substrato e um receptor biológico. De acordo com a literatura, métodos de simulação molecular são baseados principalmente na plataforma de computador na qual a estrutura molecular poderia ser reconhecida visualmente (WANG *et al.*, 2022). Ao operar com métodos de estimulação molecular, os modos de interação entre moléculas diferentes podem, portanto, ser previstas com precisão no nível atômico, o que, no entanto, não é facilmente capturado por experimentos *in vitro*.

Segundo Yu e colaboradores (2023), a aplicação de métodos de simulação molecular é propícia pois promove:

- A economia do uso de muitos materiais e recursos experimentais;
- A otimização do tempo de análises e procedimentos experimentais;
- E a redução de disponibilidade de tempo e energia gastos na reprodução e validação de novos experimentos.

A simulação molecular foi usada pela primeira vez no campo da medicina para rastrear drogas moleculares de baixo peso molecular ativas (FAN; FU e ZHANG, 2019). Recentemente, foi relatado que a simulação molecular reconhece também detalhes de interação entre proteínas e substâncias exógenas mesmo num sistema complexo (WANG *et al.*, 2022).

Nos últimos anos da década (2022-2024), muitos artigos sobre “*docking molecular*” ou simulação de dinâmica molecular têm sido publicados. Em pesquisa no Science Direct (2023), são relatadas mais de 120 mil publicações científicas que se utilizam de abordagens *in silico*, especialmente estudos de *docking* e dinâmica molecular para prever,

justificar e caracterizar atividades biológicas provenientes das interações de substratos e um receptor biológico.

3.9.1 – Mapa de interactomas

As proteínas podem se ligar funcionalmente de diversas maneiras, como por meio de complexos estáveis, vias metabólicas e interações reguladoras variadas. Essas ligações formam redes, que permitem visualizar o genoma de forma mais ampla do que apenas uma coleção de funções genéticas isoladas. O servidor *STRING* (*Search Tool for the Retrieval of Interacting Genes/Proteins*) é uma ferramenta que permite analisar essas interações funcionais entre proteínas na forma de um mapa de interactomas (SZKLARCZYK *et al.*, 2015).

Os interactomas para um determinado grupo de genes consistem em nós que representam os genes e em arestas que representam as associações funcionais previstas. As conexões entre os nós podem ser exibidas com até sete cores diferentes, que correspondem aos tipos de testes utilizados para prever as associações, como *text mining* (mineração de texto), *conserved neighborhood* (vizinhança conservada), co-ocorrência, co-expressão, experimentos e bancos de dados (STRING, 2016).

Conforme Szklarczyk e colaboradores (2015), as redes de interações presentes no servidor *STRING* estão cada vez mais disseminadas em diversas áreas da biologia com o intuito de:

- I - aumentar o poder estatístico de genética humana;
- II – auxiliar na descoberta de novas drogas;
- III – preencher lacunas no conhecimento referente a enzimas metabólicas e;
- IV – prever fenótipos e funções dos genes.

O objetivo principal do *STRING* e dos interactomas é pesquisar e exibir a organização genômica conservada de forma integral para um determinado gene, proteína ou patologia pesquisados, fornecendo uma plataforma de pesquisa e interpretação de padrões através de associações funcionais (STRING, 2016).

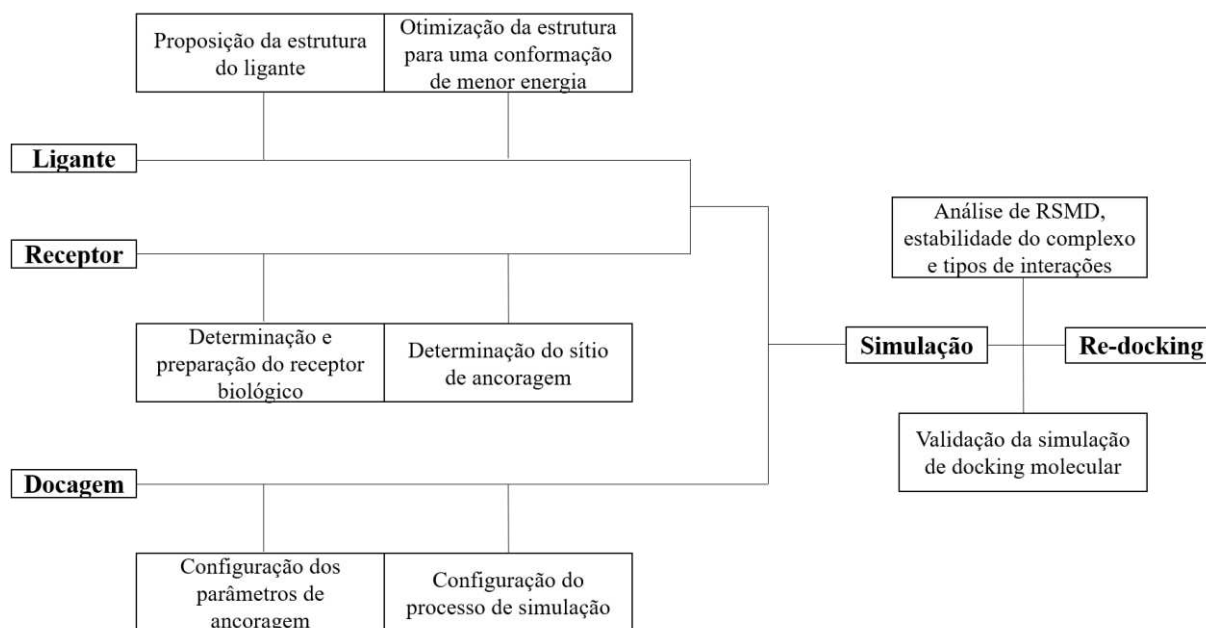
3.9.2 – Docking molecular

O *docking molecular* visa simular a conformação ideal de acordo com à complementaridade e à pré-organização, o que poderia com precisão prever o modo interativo e a afinidade de ligação entre o ligante e o receptor (FAN; FU e ZHANG, 2019).

O processo de acoplamento consiste em primeiro colocar o ligante nos sítios ativos do receptor. Ao otimizar constantemente o espaço estrutura do composto receptor, uma

conformação perfeita entre o receptor e o alvo serão assim encontrados. O local que está mais próximo da conformação natural e mostra a melhor afinidade com o receptor pode ainda ser selecionado pela função de pontuação. Durante o *docking*, a ligação precisa atender à teoria da correspondência mútua, que é, correspondência complementar de geometria, interação hidrofóbica, eletricidade estática e ligação de hidrogênio entre ligante e receptor (ZHANG *et al.*, 2023). A tecnologia de acoplamento molecular originou-se anteriormente do modelo de fechadura com chave que se baseia no reconhecimento específico entre substratos e sítios ativos enzimáticos propostos por Fischer (1894). Este modelo enfatiza que as características da fechadura e da chave são fixas, que mais tarde é chamado de modelo rígido (WANG *et al.*, 2022). A Figura 12 esquematiza o processo de *docking molecular*.

Figura 12: Procedimento de *docking molecular*



Fonte: Elaborado pelo autor (2024)

A estrutura tridimensional das proteínas é obtida através de cristalografia de Raios-X e disposta em websites de banco de dados (ASTRAKAS; GOUSIAS e TZAPHLIDOU, 2011). Rocha e colaboradores (2023) determinam que as estruturas de ligante e proteína devem ser preparadas para o processo de docagem, diminuindo os estados de energia para uma conformação mais estável, ajustando os parâmetros necessários para obtenção de dados e simulação, a localização de sítio ativo ou alostérico (disponível em banco de dados). Ao realizar a simulação, o processo de *re-docking* é necessário para validar as informações obtidas. Em geral, nesse processo é avaliado as interações intermoleculares promovidas entre o substrato e

o receptor biológico, a energia relacionada à estabilidade do complexo formado (idealmente menor que $-7,0 \text{ kJ.mol}^{-1}$) e unidades métricas relacionadas à distância dos átomos dos ligantes sobrepostos, *RSMD* (*Root-mean-square deviation of atomic positions* – desvio quadrático médio das posições atômicas) (menor que $2,0 \text{ \AA}$).

3.9.3 – Perfil farmacocinético e toxicidade *in silico*

A análise de perfil farmacocinético corresponde ao estudo da evolução temporal do movimento do fármaco e seu destino *in vivo* após administrado em um organismo. Em ordem cronológica os eventos da fase farmacocinética ocorrem como segue: absorção, distribuição, metabolismo e excreção do fármaco, conhecidos simplesmente por ADME. Durante a absorção o composto bioativo atravessa membranas biológicas e organelas. Esse processo é fortemente dependente das características físicoquímicas do fármaco (ionizado, não ionizado, tamanho, coeficiente de partição, etc.) e pode ocorrer através de difusão passiva ou mecanismos fisiológicos mais sofisticados. A corrente sanguínea se encarrega de distribuí-lo pelo organismo. A função do metabolismo é transformar quimicamente os fármacos ou qualquer outra substância estranha ao organismo (xenobióticos) em derivados solúveis em água para facilitar a sua eliminação (WIGGERS, 2011).

Portanto, a determinação da absorção, distribuição, metabolismo e excreção (ADME) como perfil farmacocinético juntamente com a toxicidade (ADMET) são parâmetros importantes na determinação da biodisponibilidade e dos efeitos tóxicos de uma molécula, ajudando na redução de tempo e custo de pesquisa e desenvolvimento de novos medicamentos (SAHU *et al.*, 2016).

Para a melhoria da previsão de ADMET, os modelos *in silico* estão contribuindo para a otimização de medicamentos. Devido à complexidade do processo ADME, não é possível tomar decisões com base em um único descritor. Implementações de *big data* e aprendizado de máquina estão contribuindo significativamente para análises ADMET (SCHNECKENER *et al.*, 2019).

O pkCSM é uma das principais abordagens atualmente usadas para prever propriedades farmacocinéticas de substâncias químicas de baixo peso molecular. A ferramenta calcula dados baseados em assinaturas de farmacoforos e propriedades moleculares em gráficos de milhares de drogas reportadas na literatura para representar a química e a topologia de moléculas de baixo peso molecular e a obtenção de dados acurados (PIRES; BLUNDLELL e ASCHER, 2015).

4. METODOLOGIA

4.1 – Construção de mapa de interactomas

A ferramenta *STRING* v. 12.0 foi utilizada para construção de mapa de interactomas do câncer colorretal (código map05210 em organismo *Homo sapiens*). Para a construção do mapa de interactomas completo a partir dos sequenciamentos e códigos obtidos pelos bancos de dados, associações físicas e funcionais foram consideradas; apenas interações com evidência experimental ou disponível em bancos de dados curados foram consideradas, considerando $score > 0,9$ e *FDR* (*False discovery rate* - taxa de descoberta falsa) máximo de 1%, com o objetivo de localizar as proteínas e genes mais associados ao câncer colorretal.

As ferramentas de enriquecimento funcional do software *STRING* v11.5 e o Cytoscape v3.9.1 foram utilizadas para quantificar as interações promovidas dentro do mapa (denominadas por graus), analisar os processos biológicos e confirmar as vias ontológicas gênicas, com parâmetros como processos biológicos, função molecular, componente celular, publicações de referência, descrição de doença e domínios de proteína. Esses critérios foram aplicados para determinação do(s) alvo(s) molecular(es) (nós). A enzima *PI3K α* foi selecionada como receptor biológico.

4.2 – Estudo de *Docking Molecular*

Esse estudo avaliou o potencial anticancerígeno dos derivados oxímicos produzidos por Oliveira e colaboradores (2024) (58-67) sob a enzima *PI3K α* .

As estruturas químicas foram esquematizadas no *ACD/ChemSketch* v. 14.0 e salvas em formato .mol. A otimização das conformações mais estáveis foi configurada no software Avogadro v. 1.2.0 e a estrutura dos confôrmeros salvas em .pdb. O Avogadro gera conformações com energias variando em margem $\pm 0,20$ kJ.mol⁻¹.

O estudo de *docking molecular* foi realizado usando software Autodock Vina v. 1.1.2. O alvo molecular foi selecionado conforme os dados analisados no mapa de interactomas do câncer colorretal e estudo na literatura. *PI3K α* foi o alvo selecionado dada as redes de interações de proteínas e sua importância no controle de células cancerígenas HCT-116. Sua estrutura foi cristalizada por Burke e McPhail (2021) e obtida através do *RCBS Protein Data Bank*. O código do alvo molecular é designado como 7R9V. Para reportagem das coordenadas do sítio ativo ((x = 7.330962; y = -0.8685; z = -18.81154), receptor e cada ligante foram submetidos ao portal *ProteinPlus* (<https://proteins.plus/>) (SCHONINGSTIERAND *et al.*, 2020), que por meio da ferramenta *DoGSiteScore* (VOLKAMER *et al.*, 2010, 2012),

caracterizou os sítios de interação da macromolécula. Mutações na estrutura do alvo molecular foram verificadas e corrigidas através de Mutagênese em software *PyMOL* v. 2.5.5 comparando com as sequências de aminoácidos com a estrutura original disponível em UNIPROT (<https://www.uniprot.org/>).

7R9V e substratos foram preparados através de metodologia adaptada de Frota e colaboradores (2022) em ferramenta Autodock Tools v. 1.5.7. A preparação do alvo molecular envolveu a remoção de solventes e resíduos de substâncias químicas, a adição de hidrogênios polares e cargas de Kollman. Os parâmetros foram definidos em prol do algoritmo lamarkiano. A caixa grade de cada alvo molecular foi descrita suas dimensões e localização conforme especificações da literatura vigente da Tabela 3 e adaptada em prol de cada substância bioativa estudada. Foram realizadas 10 simulações de *docking molecular* para cada estemodano, com poses termodinamicamente mais estáveis.

Através do estudo de *docking molecular*, foi possível analisar a energia de estabilidade dos complexos formados, os tipos de interações intermoleculares entre os alvos moleculares e os substratos em pesquisa, a proposição de relação de função e esqueleto químico em relação ao desenvolvimento de novas substâncias químicas com potencial biológico aprimorado, a correlação de proteínas mutagênicas para formação de tumores e cânceres e a concentração mínima de inibição do alvo molecular e celular pelo ligante.

Os resultados do estudo de *docking molecular* foram salvos e analisados em .dlg. A validação do processo (*re-docking*) foi realizada em software *BIOVIA Discovery Studio* v. 21.1.0, analisando valores de *RSMD* ($\leq 2,0 \text{ \AA}$), quando comparado às coordenadas de sítio ativo da molécula.

Com base nas análises de *docking molecular* dos derivados oxímicos da estemodina, foi avaliado o sítio ativo da macromolécula e as interações com o esqueleto estemodano e substituintes. Os dados levaram à projeção de um novo derivado estemodano (**74**), com maior potencial bioativo. Um novo estudo de *docking molecular* foi realizado avaliando à complexação de **74** e a enzima *PI3K α* .

4.3 – Avaliação farmacocinética *in silico* e potencial toxicidade

Para a realização da análise de farmacocinética *in silico*, foram utilizadas as plataformas pkCSM (PIRES *et al.*, 2015) e SWISSADME (DAINA *et al.*, 2017) para prever e avaliar as propriedades farmacocinéticas do composto **74**. Essas ferramentas computacionais utilizam modelos matemáticos para simular a interação entre as moléculas e proteínas alvo,

possibilitando prever diversos parâmetros de Absorção, Distribuição, Metabolismo, Excreção e Toxicidade.

Já para avaliação de toxicidade, utilizou-se a ferramenta PROTOX-II (DRWAL *et al.*, 2014), que é capaz de prever a toxicidade potencial de compostos com base em modelos estatísticos e dados de experimentos anteriores. Essa ferramenta avalia o risco de toxicidade em diferentes órgãos e sistemas biológicos, permitindo uma análise mais completa e detalhada da segurança do composto.

4.4 – Extração de estemodina

A espécie *S. maritima* foi coletada no município de Pentecoste-CE, devidamente catalogada, dessecada e macerada. O material foi pesado (0,773 kg) e submetido à extração com solvente orgânico (hexano) a frio.

O material extraído foi concentrado sob pressão reduzida a 60 °C, rotação de 120 rpm e mantido em banho Maria para eliminação de solvente residual. Obteve-se 20,4188 g de extrato bruto *S. maritima*.

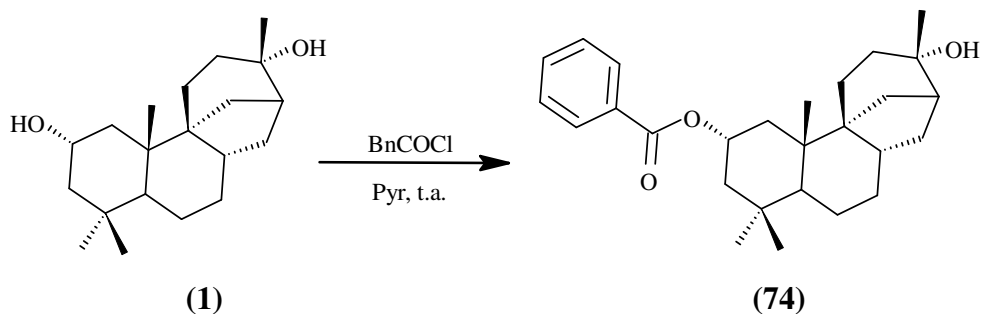
Em seguida, o extrato foi submetido a uma cromatografia (h = 18 cm; Φ = 4 cm) em coluna filtrante com sílica flash, utilizando acetato de etila e hexano como fase móvel, nas proporções de 1:1. Foram coletadas 20 frações de 150 mL. Através do monitoramento com Cromatografia em Camada Delgada, foi possível a determinação das frações com o padrão estemodina (STEM). Somou-se as frações correspondentes e concentrou-se sob pressão reduzida a 60 °C e rotação de 120 rpm.

A estemodina foi purificada em cromatografia em coluna (h = 18 cm; Φ = 2 cm) utilizando acetato de etila e hexano como fase móvel, nas proporções de 1:1, para a obtenção de 1,609 g (0,21 % de rendimento).

4.5 – Benzoilação da estemodina

A Figura 13 esquematiza a obtenção do derivado semissintético benzoilado de estemodina. 10 mg de STEM (1) (0,03263 mmol) foram adicionados a 20 μ L de cloreto de benzoíla em piridina em um sistema reacional à temperatura ambiente por 2 h. O produto, STEM-Bz (74), foi isolado e purificado em cromatografia em coluna (h = 18,0 cm; Φ = 2,0 cm) usando acetato de etila e hexano (1:2) como eluente, obtendo-se 11,20 mg (83,60%).

Figura 13: Esquema geral de obtenção de STEM-Bz (74)



Fonte: Elaborado pelo autor (2024)

4.6 – Caracterização do novo derivado estemodano

O derivado obtido foi caracterizado por Ressonância Magnética Nuclear (RMN) através de técnicas uni e bidimensionais (^1H , ^{13}C , HMQC e HMBC). Os espectros de RMN foram obtidos em CDCl_3 em espectrômetro Bruker, modelo Advance DRX-300 (300 MHz) do Centro Nordestino de Aplicação e Uso da Ressonância Magnética Nuclear (CENAURMN) da Universidade Federal do Ceará (UFC).

O ponto de fusão do estemodano 74 foi obtido usando Aparelho Digital de Ponto de Fusão MQAPF-302 da Micro Química com taxa de $0,5\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$.

No contexto do câncer colorretal, a análise de interactomas do mapa da Figura 14 relevou as seguintes proteínas: *AKT1*, *AKT2*, *AKT3*, *APC*, *APC2*, *APPL1*, *ARAF*, *AREG*, *AXIN1*, *AXIN2*, *BAD*, *BAK1*, *BAX*, *BBC*, *BCL2*, *BCL2L11*, *BRAF*, *CASP3*, *CASP9*, *CCND1*, *CDKN1A*, *CTNNB1*, *CYCS*, *DCC*, *DDB2*, *EGF*, *EGFR*, *EREG*, *FOS*, *GADD45A*, *GADD45B*, *GADD45G*, *GRB2*, *GSK3B*, *HRAS*, *JUN*, *KRAS*, *LEF1*, *MAP2K1*, *MAP2K2*, *MAPK1*, *MAPK3*, *MAPK8*, *MAPK9*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH3*, *MSH6*, *MTOR*, *MYC*, *NRAS*, *PIK3CA*, *PIK3CB*, *PIK3CD*, *PIK3R1*, *PIK3R2*, *PIK3R3*, *PMAIP1*, *POLK*, *RAC2*, *RAC3*, *RAF1*, *RALA*, *RALB*, *RALGDS*, *RHOA*, *RPS6KB1*, *RPS6KB2*, *SMAD2*, *SMAD3*, *SMAD4*, *SOS1*, *SOS2*, *TCF7*, *TCF7L1*, *TCF7L2*, *TGFA*, *TGFB1*, *TGFB3*, *TGFBR1*, *TGFBR2* e *TP53*.

Ao total, a análise de interações proteína-proteína revelou a existência de 82 nós, ou seja, as proteínas associadas à progressão do câncer colorretal. A Tabela 1 descreve todos os nós e interações (graus) promovidas no mapa de interactomas.

Tabela 1: Grau de nós do mapa de interactomas do câncer colorretal

Nó	Grau	Nó	Grau	Nó	Grau	Nó	Grau
<i>AKT1</i>	34	<i>CTNNB1</i>	19	<i>MAPK8</i>	21	<i>RALB</i>	7
<i>AKT2</i>	22	<i>CYCS</i>	6	<i>MAPK9</i>	19	<i>RALGDS</i>	10
<i>AKT3</i>	21	<i>DCC</i>	3	<i>MLH1</i>	4	<i>RHOA</i>	12
<i>APC</i>	6	<i>DDB2</i>	1	<i>MSH2</i>	4	<i>RPS6KB1</i>	9
<i>APC2</i>	6	<i>EGF</i>	8	<i>MSH3</i>	3	<i>RPS6KB2</i>	10
<i>APPL1</i>	4	<i>EGFR</i>	21	<i>MSH6</i>	3	<i>SMAD2</i>	13
<i>ARAF</i>	8	<i>EREG</i>	4	<i>MTOR</i>	12	<i>SMAD3</i>	18
<i>AREG</i>	4	<i>FOS</i>	12	<i>MYC</i>	14	<i>SMAD4</i>	17
<i>AXIN1</i>	10	<i>GADD45A</i>	4	<i>NRAS</i>	21	<i>SOS1</i>	9
<i>AXIN2</i>	9	<i>GADD45B</i>	3	<i>PIK3CA</i>	21	<i>SOS2</i>	6
<i>BAD</i>	11	<i>GADD45G</i>	3	<i>PIK3CB</i>	16	<i>TCF7</i>	8
<i>BAK1</i>	6	<i>GRB2</i>	10	<i>PIK3CD</i>	16	<i>TCF7L1</i>	5
<i>BAX</i>	7	<i>GSK3B</i>	18	<i>PIK3R1</i>	19	<i>TCF7L2</i>	6
<i>BBC3</i>	6	<i>HRAS</i>	24	<i>PIK3R2</i>	16	<i>TGFA</i>	4
<i>BCL2</i>	21	<i>JUN</i>	18	<i>PIK3R3</i>	16	<i>TGFB1</i>	8
<i>BCL2L11</i>	9	<i>KRAS</i>	25	<i>PMAIP1</i>	5	<i>TGFB3</i>	3
<i>BRAF</i>	13	<i>LEF1</i>	7	<i>POLK</i>	1	<i>TGFBR1</i>	6
<i>CASP3</i>	12	<i>MAP2K1</i>	13	<i>RAC2</i>	15	<i>TGFBR2</i>	7

<i>CASP9</i>	8	<i>MAP2K2</i>	12	<i>RAC3</i>	13	<i>TP53</i>	36
<i>CCND1</i>	10	<i>MAPK1</i>	25	<i>RAF1</i>	21		
<i>CDKN1A</i>	10	<i>MAPK3</i>	24	<i>RALA</i>	7		

Fonte: Elaborado pelo Autor (2024)

A integração dos dados e a formação de clusters das enzimas e isoformas pelo Cytoscape evidenciaram *MAPK* (114 graus), *PIK3* (104 graus), *AKT* (77 graus), *SMAD* (48 graus) e *TP53* (36 graus) como as séries enzimáticas mais significativas na progressão do câncer colorretal. *MAPK* e *PIK3/AKT* são cinases que desempenham papéis importantes na regulação da expressão gênica, no crescimento celular e na sobrevivência. Constituem vias metabólicas importantes no tratamento de câncros.

A ativação persistente da via de *PI3K* contribui para o crescimento celular descontrolado. O *PIP3*, produzido pela *PI3K*, recruta a proteína cinase *AKT* para a membrana celular. A *AKT*, por sua vez, desencadeia uma cascata de eventos que promovem a proliferação celular, inibem a apoptose e estimulam o metabolismo, favorecendo assim o crescimento tumoral (ALZAHIRANI, 2019). Dessa forma, esse estudo *in silico* enfatizou análise sob a via metabólica *PI3K/AKT* como estratégia terapêutica no controle de células cancerígenas, partindo da enzima *PI3K α* .

A análise de *PI3K α* é justificada pela importância de seu perfil funcional e os processos biológicos que gerencia no câncer colorretal, como descrito na Tabela 2.

Tabela 2: Ontologia genética dos processos biológicos de *PI3K α*

Descrição	FDR	Referência
<i>Anoikis</i> (morte celular programada)	5,80e-04	FU <i>et al.</i> , 2021
Via de sinalização do fator de crescimento celular	9,54e-14	STEFANI <i>et al.</i> , 2021
Regulação do processo apoptótico	5,46e-05	GHODSINIA <i>et al.</i> , 2020
Sinalização de fosfatidilinositol 3-quinase	2,13e-06	FU <i>et al.</i> , 2021
Regulação do processo celular	7,05e-16	FU <i>et al.</i> , 2021
Transdução de sinal	1,33e-37	TABIBZADEH <i>et al.</i> , 2020
Resposta celular à substância orgânica	8,01e-19	OLSON <i>et al.</i> , 2022

Fonte: Elaborado pelo Autor (2024)

Diante do papel biológico que a enzima desempenha na ontologia genética, exposto na Tabela 2, a *PI3K α* é frequentemente alvo de estudos e investigações no campo da pesquisa

em câncer, e inibidores específicos da *PI3K α* estão sendo desenvolvidos como potenciais terapias anticancerígenas. Portanto, a *PI3K α* desempenha um papel significativo na regulação de processos celulares essenciais, especialmente no contexto do câncer, onde sua ativação anormal pode contribuir para a patogênese da doença. Com isso, os estudos de *docking molecular* foram realizados usando *PI3K α* como alvo molecular.

5.2 – Dados do estudo de *docking molecular*

As Figuras 15-21 e Tabelas 3 e 4 descrevem a formação dos complexos de 7R9V e derivados estemodanos oxímicos (**1**, **58**, **59**, **60**, **61**, **62** e **63**) que apresentaram atividades anticancerígenas relevantes contra linhagem de células cancerígenas HCT-116, e o composto estemodano benzoilado (**74**) desenvolvido, analisando energia de estabilidade do complexo, tipos de interações intermoleculares entre os substratos e o alvo molecular.

Figura 15: Mapa 2D das interações do complexo 7R9V-1

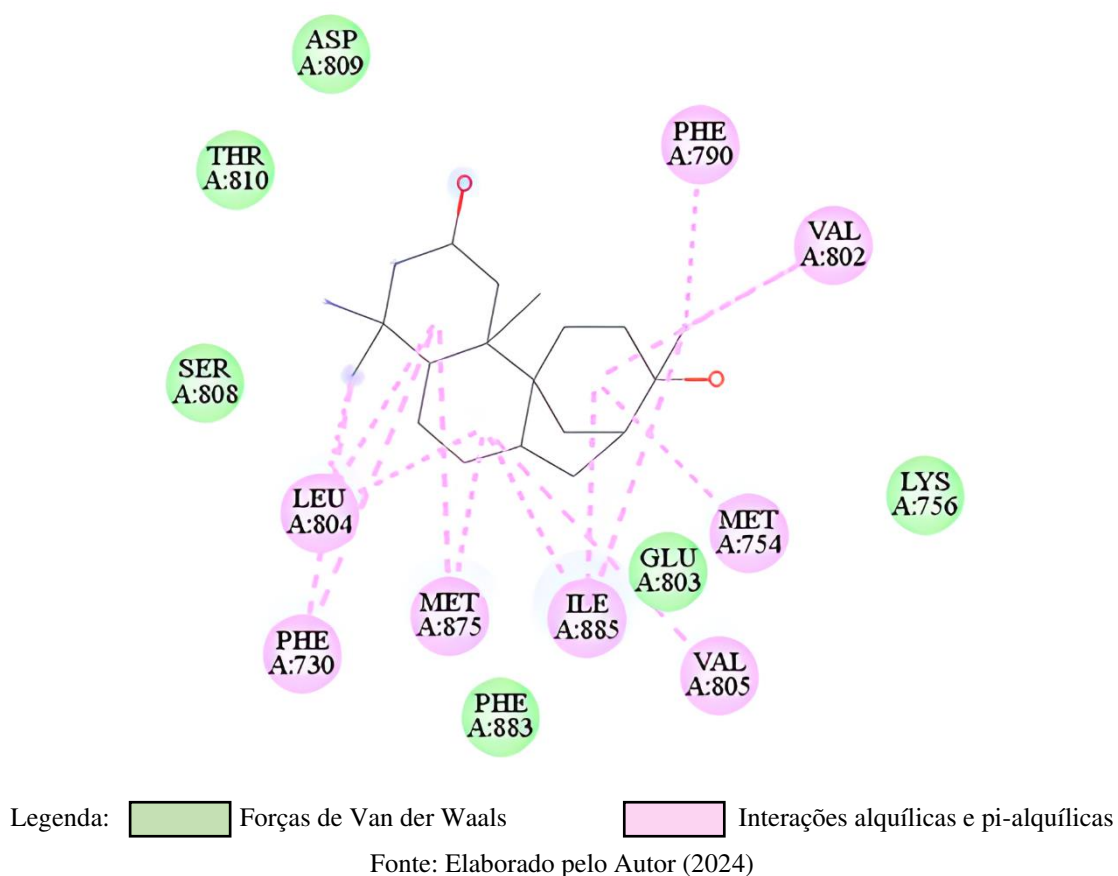


Tabela 3 – Interações do complexo 7R9V-1

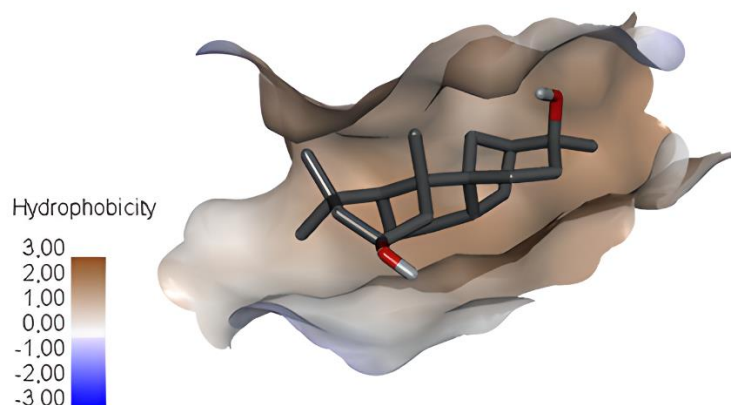
Sítio de Interação	Comprimento em Angstrom	Natureza da Interação	Tipo de Interação
A:MET754 - :UNL1	5,1308	Hidrofóbica	Alquila
A:VAL802 - :UNL1	5,41318	Hidrofóbica	Alquila
A:LEU804 - :UNL1	5,20887	Hidrofóbica	Alquila
A:LEU804 - :UNL1	5,45651	Hidrofóbica	Alquila
A:VAL805 - :UNL1	5,18619	Hidrofóbica	Alquila
A:MET875 - :UNL1	5,22621	Hidrofóbica	Alquila
A:MET875 - :UNL1	4,49796	Hidrofóbica	Alquila
A:ILE885 - :UNL1	5,14809	Hidrofóbica	Alquila
A:ILE885 - :UNL1	4,39981	Hidrofóbica	Alquila
:UNL1:C - A:VAL802	4,19612	Hidrofóbica	Alquila
:UNL1:C - A:ILE885	4,5504	Hidrofóbica	Alquila
:UNL1:C - A:LEU804	3,85398	Hidrofóbica	Alquila
A:PHE730 - :UNL1	5,37605	Hidrofóbica	Pi- Alquila
A:PHE730 - :UNL1:C	4,59495	Hidrofóbica	Pi- Alquila
A:PHE790 - :UNL1:C	4,39778	Hidrofóbica	Pi- Alquila

Fonte: Elaborado pelo Autor (2024)

A Figura 15 ilustra a complexação do alvo molecular 7R9V e o ligante **1** no sítio ativo da macromolécula. O complexo 7R9V-**1** (RSMD = 1,5898 Å) apresenta-se estável, detendo de uma energia de afinidade de $-8,49 \pm 0,01$ kcal.mol⁻¹. As interações alquílicas e pi-alquílicas, visualizadas na Figura 15 e descritas na Tabela 2, fortalecem a interação do alvo molecular e o ligante. A análise do complexo 7R9V-**1** foi substancial para evidenciar a relação do esqueleto estemodano e as interações intermoleculares com o sítio ativo da macromolécula, servindo de base para a elucidação de um composto potencialmente mais bioativo.

É relevante mencionar que o ligante **1** não promove interações intermoleculares hidrofílicas com o alvo molecular, como representado na Figura 16 abaixo. Dessa forma, é possível analisar que o esqueleto estemodano exerce grande interação com o alvo molecular.

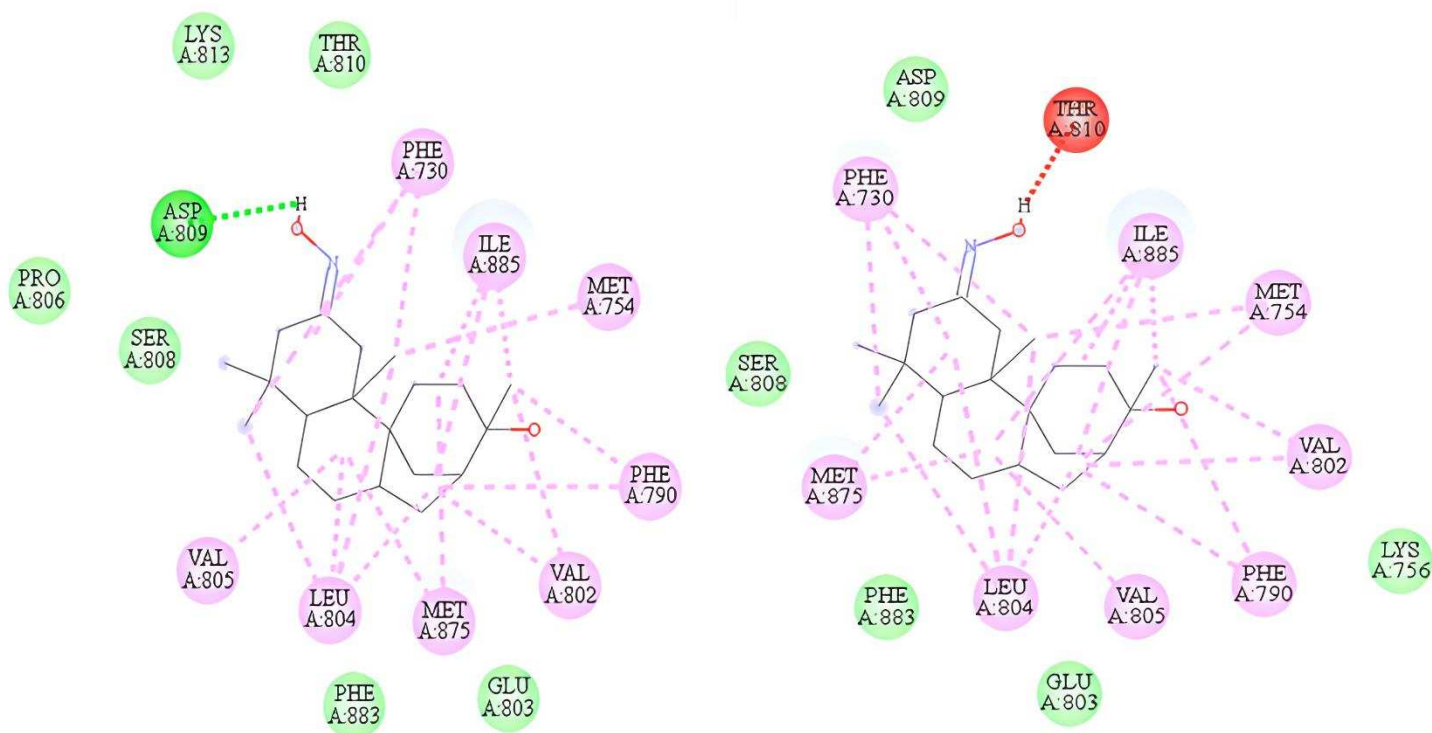
Figura 16: Análise de hidrofobicidade do complexo 7R9V-1



Fonte: Elaborado pelo Autor (2024)

Com base na Figura 16, a ausência de interações hidrofílicas nas hidroxilas em C₂ e C₁₃ tornou-se promissor para promoção de modificações estruturais.

Diante do pressuposto, Oliveira e colaboradores (2024) realizaram reações de oximação no esqueleto estemodano, levando à formação de isômeros *E* e *Z*. Por outro lado, apenas o isômero *E* (**58**) apresentou atividade relevante na inibição de células HCT-116, como demonstra a Figura 17.

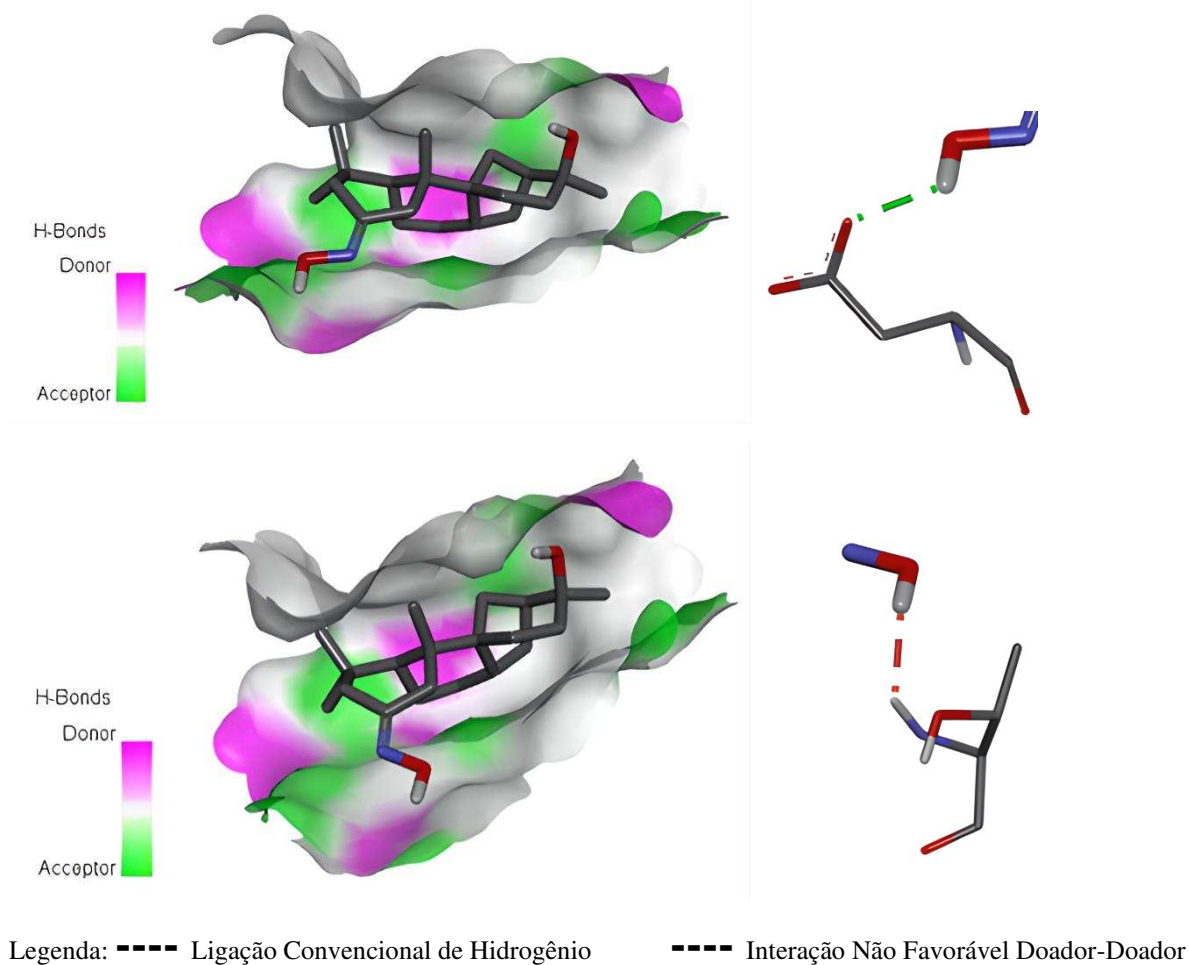
Figura 17: Mapas 2D dos complexos 7R9V-**58** e 7R9V-**63**, respectivamente

Legenda: Forças de Van der Waals Ligação Convencional de Hidrogênio
 Interações alquílicas e pi-alquílicas Interação doador-doador de e⁻ não favorável

Fonte: Elaborado pelo Autor (2024)

A Figura 17 ilustra a complexação do alvo molecular 7R9V e os ligantes isômeros **58** e **63** no sítio ativo da macromolécula, respectivamente. Apesar da relação estereoisomérica entre as estruturas, o complexo 7R9V-**58** (RMSD = 1,5698 Å) apresenta-se mais estável, formando um complexo de energia de afinidade de $-9,16 \pm 0,00 \text{ kcal.mol}^{-1}$, contra a formação do complexo 7R9V-**63** (RMSD = 1,6016 Å) que gera energia de $-8,54 \pm 0,00 \text{ kcal.mol}^{-1}$. Esse fato decorre da configuração da *Z*-estemoxima promover uma interação não favorável de caráter doador-doador de elétrons no sítio de interação THR A:810, como mostra a Figura 18.

Figura 18: Análise de pontes de hidrogênio nos complexos 7R9V-**58** e 7R9V-**63**



Fonte: Elaborado pelo Autor (2024)

Conforme a Figura 18, os pares de elétrons livres do oxigênio do grupo oxímico promovem ligações de hidrogênio com o sítio ativo da macromolécula. Na estrutura de configuração Z, os elétrons livres do oxigênio da oxima interagem com uma região do sítio ativo da macromolécula doadora de elétrons (THR A:810), causando repulsão dos pólos. Isso ocorre devida proximidade excessiva do ligante ao sítio ativo da macromolécula. Os grupamentos doadores acabam desestabilizando a formação do complexo, reduzindo a energia de estabilidade originada e, com isso, a efetividade da complexação. Em contrapartida, derivados **64-68** (com energias de estabilidade do complexo que variam entre $-7,30 \pm 0,00$ kcal.mol⁻¹ a $-6,76 \pm 0,00$ kcal.mol⁻¹) também apresentam complexos instáveis, reduzindo cada vez mais a estabilidade da interação do alvo molecular e do ligante e a atividade anticancerígena dos análogos sob HCT-116, como evidenciado nos dados apresentados por Oliveira e colaboradores (2024).

A análise de formação de ligações de hidrogênio no sítio ativo da macromolécula evidenciou uma rede complexa de regiões de caráter aceptor e doador de elétrons. Esse fato foi essencial para a projeção de um derivado estemodano de maior potencial bioativo que não interagisse com essa rede, pois, apesar das ligações convencionais de hidrogênio se apresentarem como interações intermoleculares mais fortes que interações hidrofóbicas, ainda apresentam desvantagens e levar a efeitos colaterais (GAN *et al.*, 2021).

Por exemplo, a formação de interações intermoleculares muito rígidas capazes de limitar a atividade enzimática não seria uma alternativa viável. Isso é justificado no que tange ao fato de que fortes interações podem causar problemas de dissociação, causando bioacumulação da substância no meio intracelular (toxicidade); dificuldade de seletividade. Esse fator é consequência da alta afinidade que pode levar a uma interação não seletiva, onde o ligante se liga não apenas ao sítio alvo, mas também a outros locais, causando efeitos adversos (KAWASHIMA, 2021).

Além disso, a promoção de interações hidrofílicas pode contribuir para um controle cinético, não termodinamicamente estável. Esse fator decorre da quantidade de interações de natureza hidrofílica em detrimento às interações hidrofóbicas (LORDANSKII; ZAIKOV e RUDAKOVA, 2023). Nessa perspectiva, o esqueleto estemodano exerce pouca influência na estabilidade do complexo, pois pouco interage com o sítio ativo da macromolécula.

No contexto de interações proteína-ligante, quando muitos grupos hidrofílicos estão envolvidos, podem surgir alguns cenários que afetam a estabilidade do complexo, como competição com a água. Grupos hidrofílicos têm afinidade pela água. Se o ligante e a proteína possuem muitos desses grupos, eles podem competir com as moléculas de água, tornando a

formação do complexo menos favorável, uma vez que a água pode ter uma interação mais estável com esses grupos (ZDRALI *et al.*, 2019);

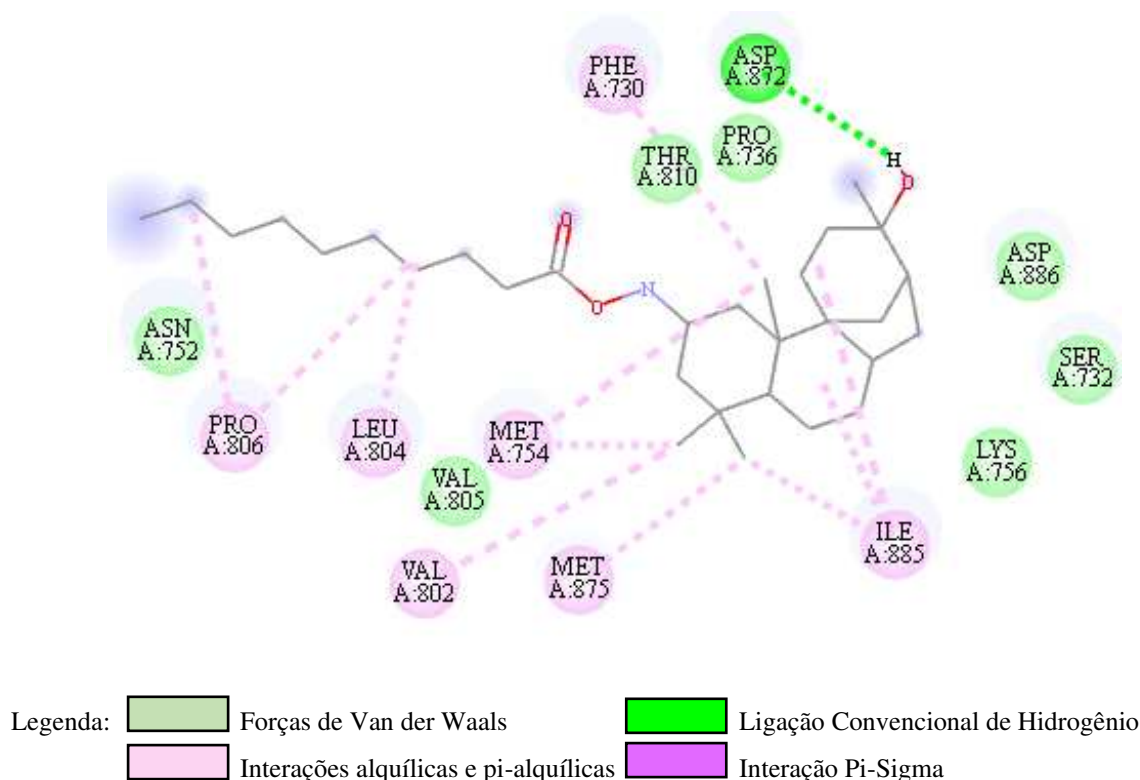
A conformação da proteína também pode ser afetada. A presença de muitos grupos hidrofílicos na interface proteína-ligante pode desestabilizar a conformação da proteína. Isso pode levar a uma estrutura menos estável para a proteína na presença do ligante, impactando a estabilidade do complexo (GAN *et al.*, 2021);

Interações hidrofílicas impactam em menos interações complementares. Se a maioria das interações entre a proteína e o ligante forem predominantemente hidrofílicas, pode haver uma falta de interações complementares ou específicas que contribuam significativamente para a estabilidade do complexo. As interações hidrofóbicas e interações específicas (como ligações de hidrogênio-carbono, interações iônicas, interações de van der Waals) tendem a ser mais favoráveis para a estabilidade do complexo (BREBERINA *et al.*, 2019);

Por fim, interações hidrofílicas interferem na flexibilidade e dinâmica da macromolécula. Muitas interações hidrofílicas podem aumentar a flexibilidade e a dinâmica do complexo proteína-ligante, o que pode levar a uma estabilidade reduzida. Interferências com a estrutura tridimensional específica ou restrição do movimento necessário para formar um complexo estável podem ser desvantajosas (HUANG e LIU, 2010).

A partir das informações mensuradas, promover transformações químicas de modo a aumentar a polaridade do ligante podem não ser tão significativas, causando efeitos adversos à estabilidade do complexo e inviabilizando a inibição da atividade enzimática.

A relação estrutura-atividade dos derivados estemodanos **59-62** também foram analisadas, como representado na Figura 19. Nesse caso, é avaliada a influência da extensão da cadeia lateral relacionada ao esqueleto estemodano sob a atividade anticâncer promovida.



Fonte: Elaborado pelo Autor (2024)

O aumento do comprimento da cadeia relacionada ao esqueleto estemodano, como analisado na Figura 19, na qual foram inseridos grupos acíclicos etanoila (**59**), propanoila (**60**), hexanoila (**61**) e decanoila (**62**), notam-se menores associações do ligante com o sítio ativo do alvo molecular. As cadeias acíclicas pouco interagem com o sítio ativo da macromolécula, como evidenciado nos mapas em 2D da Figura 18. Como consequência, formam complexos cada vez menos energeticamente e estruturalmente estáveis ($-8,85 \pm 0,00 \text{ kcal.mol}^{-1}$, $-8,84 \pm 0,00 \text{ kcal.mol}^{-1}$, $-7,35 \pm 0,01 \text{ kcal.mol}^{-1}$, e $-7,15 \pm 0,35 \text{ kcal.mol}^{-1}$, respectivamente). É importante salientar que as cadeias laterais também interferem na conformação mais estável do esqueleto estemodano, corroborando para uma distorção da molécula, inviabilizando algumas interações da estrutura do ligante no sítio ativo da macromolécula.

Esse estudo de *docking* ainda relatou que, quanto maior o comprimento da cadeia hidrofóbica relacionada ao esqueleto estemodano, menor será a efetividade da inibição da proteína, prevalecendo um caráter antagonista e impedindo a ação da substância bioativa sobre o receptor. Isso favoreceu a projeção de um novo derivado.

A presença de ligações pi-alquílicas e pi-sigma corroboraram para o aumento da estabilidade dos complexos gerados com os análogos estemodanos. Notoriamente, interações hidrofóbicas de tipo pi são muito importantes pois conferem estabilidade no sítio ativo da proteína, promovendo maior estabilidade com um ligante (KAZLAUSKAS, 2019). Ao

promover uma análise de aromaticidade do sítio ativo da macromolécula, tornou-se possível desenvolver um derivado benzoílado da estemodina (**74**). A atividade *in silico* de STEM-Bz (**74**) sob a inibição de 7R9V também foi analisada e descrita no mapa 2D da Figura 20 e Tabela 4.

Figura 20: Mapa 2D das interações do complexo 7R9V-74

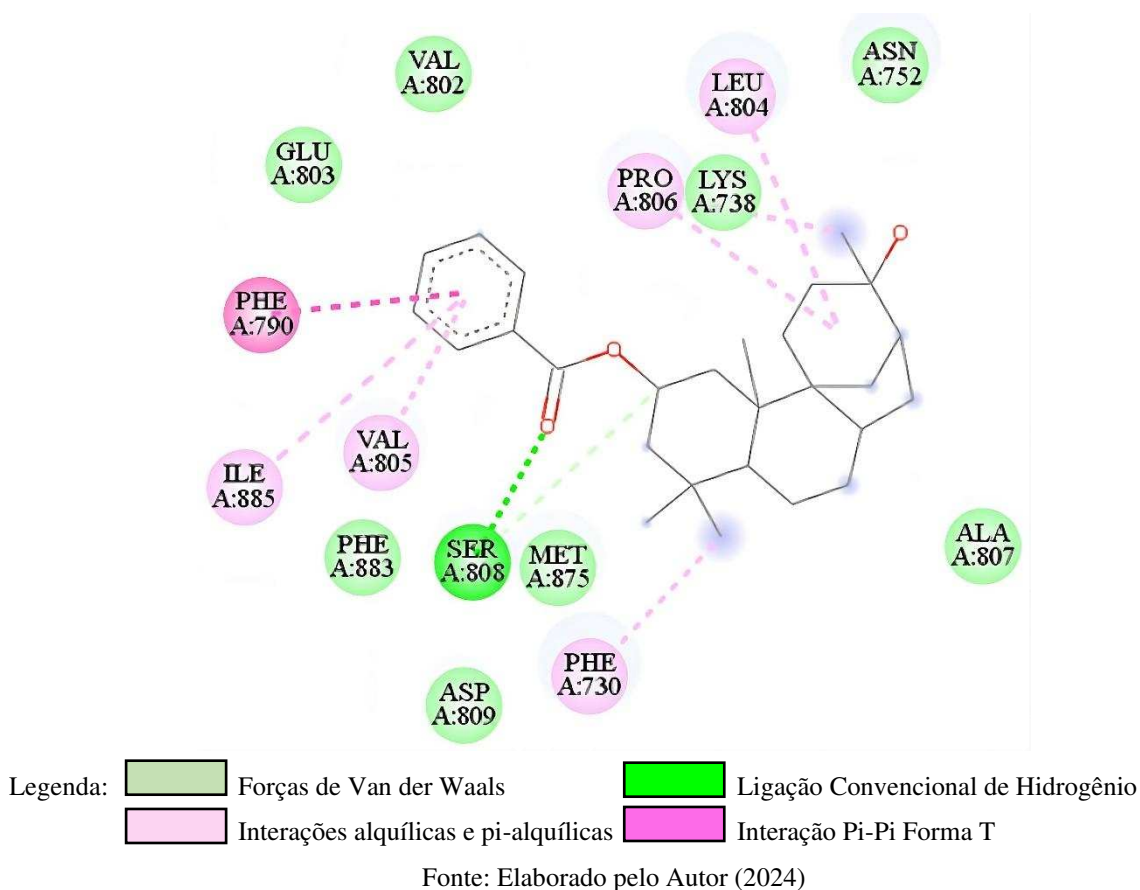


Tabela 4 – Interações do complexo 7R9V-74

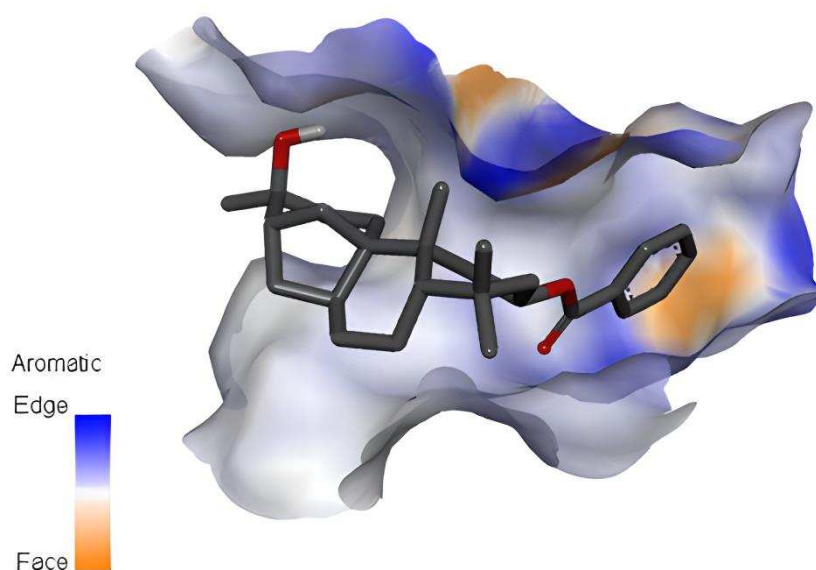
Sítio de Interação	Distância em Angstrom	Natureza da Interação	Tipo de Interação
A:SER808:HG - :UNL1:O	2,17974	Ligação de Hidrogênio	Convencional
A:PHE790 - :UNL1	4,4849	Hidrofóbica	Pi-Pi Forma-T
A:LEU804 - :UNL1	5,16796	Hidrofóbica	Alquila
A:PRO806 - :UNL1	5,10274	Hidrofóbica	Alquila
:UNL1:C - A:PRO806	4,8139	Hidrofóbica	Alquila
A:PHE730 - :UNL1:C	4,5346	Hidrofóbica	Pi- Alquila

:UNL1 - A:VAL805	5,49431	Hidrofóbica	Pi- Alquila
:UNL1 - A:ILE885	5,17114	Hidrofóbica	Pi- Alquila

Fonte: Elaborado pelo Autor (2024)

A Figura 20 ilustra a complexação do alvo molecular e o ligante STEM-Bz (**74**). Apesar da molécula promover menos interações com o sítio ativo da macromolécula, a energia relacionada à formação do complexo é relativamente satisfatória comparada às demais substâncias mensuradas ($E = -9,32 \pm 0,03 \text{ kcal.mol}^{-1}$). Isso se deve por meio de associações mais fortes promovidas pelo grupo benzoila aos sítios de interação do alvo molecular do tipo Pi-Pi em forma T, em PHE A:790 (descrita na Tabela 4), que levam a um aumento da estabilidade do complexo originado. A inserção do grupo benzoil corrobora para efeito de empilhamento ao associar numa região do sítio ativo aromática, como analisada e destacada na Figura 21.

Figura 21: Análise de aromaticidade do complexo 7R9V-74



Fonte: Elaborado pelo Autor (2024)

As análises de relação estrutura-atividade são resumidas na Tabela 5. A formação de um complexo termodinamicamente menos estável, por consequência, acomete ao potencial biológico de uma substância química, levando a um maior IC_{50} , diminuindo a atividade anticancerígena de uma substância química sob células mutagênicas.

Tabela 5 – Análise da relação estrutura atividade *in silico* e *in vitro*

Análogo	Energia de estabilidade do complexo com 7R9V (kcal.mol ⁻¹)	IC ₅₀ <i>in silico</i> sob a enzima (nM)	IC ₅₀ <i>in silico</i> sob a célula (µM)	IC ₅₀ <i>in vitro</i> sob a célula (µM) (OLIVEIRA <i>et al</i> , 2024)
1	-8,28±0,02	602,65	57,55	51,35
58	-9,16±0,00	193,04	39,39	35,96
59	-8,85±0,00	323,79	41,15	37,56
60	-8,84±0,00	500,00	45,85	41,85
61	-7,35±0,01	648,09	47,81	43,64
62	-7,15±0,35	1113,00	*	*
74	-9,32±0,03	146,74	14,69	*

*Valor não relatado

Fonte: Elaborado pelo Autor (2024)

Ademais, é importante salientar que todos os dados de *docking molecular* e IC₅₀ são baseados na estabilidade do complexo ligante-alvo molecular, considerando apenas as interações intermoleculares, energia de estabilidade do complexo e RMSD. Não considera para os dados outros fatores que podem influenciar a atividade anticancerígena dos análogos estemodanos como concentração da substância, tempo de exposição, propriedades farmacocinéticas, interferência em outros processos, resistência do alvo molecular, presença de co-fatores e moduladores, estágio do ciclo celular ou metabólico, capacidade de penetração celular e toxicidade.

5.3 – Análise de perfil farmacocinético e de toxicidade

Com bases nos estudos de docagem molecular realizados, foi realizada uma análise farmacocinética *in silico* do estemodano **74**, sendo o composto que apresentou maior potencial bioativo *in silico*, afim de avaliar as propriedades fundamentais que afetam a absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade. Os resultados são expressos nas Tabelas 6 e 7.

Tabela 6: Dados farmacocinéticos de estemodano 74

Propriedades	Nome do modelo	Unidade	74
Absorção	Solubilidade em Água	log mol.L ⁻¹	-4.717
Absorção	Permeabilidade <i>Caco-2</i>	log Papp in 10 ⁻⁶ cm.s ⁻¹	1.58
Absorção	Absorção Intestinal (humano)	% Absorvido	92.987
Absorção	Permeabilidade Cutânea	log Kp	-2.884
Absorção	Substrato da P-glicoproteína	Sim/Não	Não
Absorção	Inibidor da P-glicoproteína I	Sim/Não	Sim
Absorção	Inibidor da P-glicoproteína II	Sim/Não	Sim
Distribuição	Volume de Distribuição (VDss)	log L.kg ⁻¹	0.193
Distribuição	Fração não ligada (humano)	Fu	0
Distribuição	Permeabilidade da BHE	log BB	0.166
Distribuição	Permeabilidade do SNC	log PS	-1.341
Metabolismo	Substrato <i>CYP2D6</i>	Sim/Não	Não
Metabolismo	Substrato <i>CYP3A4</i>	Sim/Não	Sim
Metabolismo	Inibidor <i>CYP1A2</i>	Sim/Não	Não
Metabolismo	Inibidor <i>CYP2C19</i>	Sim/Não	Sim
Metabolismo	Inibidor <i>CYP2C9</i>	Sim/Não	Não
Metabolismo	Inibidor <i>CYP2D6</i>	Sim/Não	Não
Metabolismo	Inibidor <i>CYP3A4</i>	Sim/Não	Sim
Excreção	Clearance Total	log ml.min ⁻¹ .kg ⁻¹	0.314
Excreção	Substrato Renal <i>OCT2</i>	Sim/Não	Não
Toxicidade	Toxicidade AMES	Sim/Não	Não
Toxicidade	Dose tolerada máxima (humano)	log mg.kg ⁻¹ .dia ⁻¹	-0.41
Toxicidade	Inibidor de <i>hERG I</i>	Sim/Não	Não
Toxicidade	Inibidor de <i>hERG II</i>	Sim/Não	Sim
Toxicidade	Toxicidade aguda oral em ratos (LD ₅₀)	mol.kg ⁻¹	3.225
Toxicidade	Toxicidade aguda crônica em ratos (LOAEL)	log mg.kg ⁻¹ _bw.dia ⁻¹	1.843
Toxicidade	Hepatotoxicidade	Sim/Não	Não
Toxicidade	Sensibilização da pele	Sim/Não	Não
Toxicidade	Toxicidade em <i>T. Pyriformis</i>	log ug.L ⁻¹	0.367
Toxicidade	Toxicidade em <i>Minnnow</i>	log mM	0.197

Legenda: Admissível. Razoável. Inadmissível

Fonte: Elaborado pelo Autor (2024)

Todas as interpretações dos dados de farmacocinética foram baseados no manual do pKCSM (PIRES *et al.*, 2015).

A solubilidade em água é expressa em termos de logaritmo da concentração molar (mol.L^{-1}). Os valores negativos indicam uma baixa solubilidade em água, enquanto valores mais próximos de zero indicam uma maior solubilidade. No caso de **74**, a molécula tem baixa solubilidade em água, sendo justificada pela preponderância de grupos apolares.

A permeabilidade *Caco-2* é uma medida da capacidade de uma molécula atravessar uma monocamada de células *Caco-2*, que são células epiteliais encontradas no intestino humano. Os valores mais altos de *log Papp* indicam uma maior permeabilidade. A absorção intestinal representa a porcentagem de uma molécula que é absorvida no intestino humano após a administração. Valores mais altos indicam uma maior capacidade de absorção (SHIN *et al.*, 2016). Assim, é pertinente definir que o análogo **74** tem um alto poder de absorção.

A capacidade de penetrar o tecido (Permeabilidade cutânea) também favorece a absorção de **74**. Valores mais negativos de *log Kp* indicam uma maior permeabilidade cutânea (GAO *et al.*, 2021).

STEM-Bz (**74**) também atua como inibidor de P-glicoproteína. Como consequência, aumenta a absorção da substância, também aumentando sua concentração na corrente sanguínea. Isso pode favorecer a eficiência do estemodano em pequenas concentrações como potencial fármaco. Sua distribuição no interior das células também aumenta. Por outro lado, a inibição de P-glicoproteína pode favorecer uma potencial interação medicamentosa, aumentando o risco de interações com outros medicamentos (MOLLAZADEH *et al.*, 2018). Nesse caso, o uso de STEM-Bz como princípio ativo deve ser administrado isolado de outros medicamentos e em pequenas concentrações por ocasionar num estreitamento da janela terapêutica. Em alguns tipos de câncer, as células cancerígenas podem expressar altos níveis de P-glicoproteína, contribuindo para a resistência a medicamentos. A inibição da P-glicoproteína pode ser estudada como uma estratégia para superar essa resistência (SEELIG, 2020).

O efeito da substância STEM-Bz também é potencializado devido ao volume de distribuição no organismo. O volume de distribuição no equilíbrio (VDss) é uma medida da extensão em que uma molécula se distribui pelos tecidos do corpo. Valores negativos de *log VDss*, como demonstrado na Tabela 6, indicam uma distribuição mais limitada, enquanto valores positivos indicam uma distribuição mais ampla (SIMEON; MONTANARI e GLEESON, 2019).

A fração não ligada (F_u) representa a fração de uma molécula que está livre e disponível para exercer seu efeito farmacológico. Valores mais altos de F_u indicam uma maior

disponibilidade da molécula. Esse efeito pode ser danoso em elevadas concentrações, causando magnificação e atenuando efeitos colaterais (BOWMAN e BENET, 2018). O estemodano **74** não apresenta frações não ligadas, sugerindo indisponibilidade da substância para interagir com outras proteínas ou se acumular no organismo.

A permeabilidade da barreira hematoencefálica (BBB) indica a capacidade de uma molécula atravessar a barreira protetora do cérebro. Valores mais negativos de *log* BB indicam uma maior permeabilidade (DONG, 2018). A substância **74** assim não age sob a barreira protetora do cérebro. A seletividade da barreira hematoencefálica impede neurotoxicidade, inflamação, desequilíbrio químico, alterações no comportamento cognitivo, agravamento de condições neurológicas e reações imunológicas (WU *et al.*, 2021).

Conforme Juvonen e colaboradores (2021), os dados de Metabolismo do estemodano **74** o qualificam como uma substância metabolizada pelo fígado, o que facilita sua absorção e excreção no organismo. Além disso, os resultados também discorrem sobre a ativação do efeito farmacológico da molécula. Em contrapartida, também reforçam a conjectura de administração isolada do composto **74** como princípio ativo, pois podem contribuir para a promoção de interações medicamentosas. Isso inclui o não uso de antidepressivos, bebidas alcoólicas, medicamentos de ação gastrointestinal e antibióticos.

O *clearance total* é uma medida da taxa de eliminação de uma substância do organismo e é expresso em mL.min.⁻¹kg⁻¹. Valores mais altos (e positivos) indicam uma maior taxa de eliminação (BENET; LIU e WOLFE, 2018). Logo, é possível concluir que o estemodano **74** não se acumula no organismo, tendo resíduos eliminados.

No ensaio de toxicidade, o composto **74** se apresenta como substância não tóxica ao organismo humano, conforme Pires e colaboradores (2015), avaliando a toxicidade em AMES, a dose máxima humana tolerada (considera tóxico valores acima de 0,477) e administrada em *Mus*. Por outro lado, apresenta uma toxicidade considerável em *T. pyriformis* (considera tóxico valor acima de -0,5) e *Minnow* (considera tóxico abaixo de 0,5 nM), podendo resultar em impactos ambientais no descarte indevido. Além disso, como potencial inibidor de hERG II, o composto benzoilado da estemodina pode causar aumento da frequência cardíaca (BELL e GONÇALVES, 2018).

A classificação prevista de toxicidade forneceu informações adicionais sobre o potencial tóxico de **74**. As substâncias químicas apresentam uma classificação de toxicidade com base na escala do Sistema Globalmente Harmonizado de Classificação e Rotulagem de Produtos Químicos (GHS) (HOFFMANN *et al.*, 2010). Essa classificação é determinada principalmente pelo valor da DL₅₀, que é a dose letal mediana necessária para causar a morte

em 50% dos indivíduos expostos quando a substância é ingerida. A escala de classificação consiste em várias classes, cada uma com um intervalo específico de valores de DL₅₀ e uma designação correspondente:

- Classe I: fatal se ingerida ($DL_{50} \leq 5$).
- Classe II: fatal se ingerida ($5 < DL_{50} \leq 50$).
- Classe III: tóxica se ingerida ($50 < DL_{50} \leq 300$).
- Classe IV: prejudicial se ingerida ($300 < DL_{50} < 2000$).
- Classe V: pode ser prejudicial se ingerida ($2000 \leq DL_{50} \leq 5000$).
- Classe VI: não tóxica ($DL_{50} > 5000$).

O composto benzoilado da estemodina apresenta DL₅₀ igual a 6330mg.kg⁻¹. Desta forma, não é considerado tóxico. Esse resultado apresenta similaridade de 88,36%. É pertinente determinar que esses resultados se referem especificamente à toxicidade aguda e não consideram outros fatores importantes na avaliação de risco, como a exposição crônica ou os efeitos a longo prazo.

A avaliação de toxicidade em humanos é discorrida ainda na Tabela 7.

Tabela 7: Avaliação de toxicidade dos análogos estemodanos

Avaliação de toxicidade		74	
Classificação	Alvo	Predição	%
Toxicidade de órgãos	Hepatotoxicidade	Inativo	54
Pontos finais de toxicidade	Carcinogenicidade	Inativo	68
Pontos finais de toxicidade	Imunotoxicidade	Ativo	59
Pontos finais de toxicidade	Mutagenicidade	Inativo	89
Pontos finais de toxicidade	Citotoxicidade	Inativo	79
Vias de sinalização do receptor Tox21-Nuclear	Receptor de hidrocarboneto de arila (AhR)	Inativo	98
Vias de sinalização do receptor Tox21-Nuclear	Receptor de andrógeno (AR)	Inativo	75
Vias de sinalização do receptor Tox21-Nuclear	Domínio de ligação do ligante do receptor de andrógeno (AR-LBD)	Inativo	80
Vias de sinalização do receptor Tox21-Nuclear	Aromatase	Inativo	96

Vias de sinalização do receptor Tox21-Nuclear	Receptor de Estrogênio Alfa (ER)	Inativo	66
Vias de sinalização do receptor Tox21-Nuclear	Domínio de Ligação ao Ligante do Receptor de Estrogênio (ER-LBD)	Inativo	68
Vias de sinalização do receptor Tox21-Nuclear	Receptor gama ativado por proliferador de peroxissoma (PPAR-gama)	Inativo	96
Caminhos de resposta Tox21-Stress	Fator nuclear (derivado de eritróide 2) semelhante a 2/elemento responsivo a antioxidante (nrf2/ARE)	Inativo	96
Caminhos de resposta Tox21-Stress	Elemento de resposta do fator de choque térmico (HSE)	Inativo	96
Caminhos de resposta Tox21-Stress	Potencial de membrana mitocondrial (MMP)	Inativo	60
Caminhos de resposta Tox21-Stress	Fosfoproteína (supressor de tumor) p53	Inativo	94
Caminhos de resposta Tox21-Stress	Proteína 5 contendo o domínio AAA da família ATPase (ATAD5)	Inativo	95

Legenda: Probabilístico; Não tóxico Pouco probabilístico; tóxico

Fonte: Elaborado pelo Autor (2024).

A precisão dos dados do estemodano **74** é descrita em 70,97%.

Ao avaliar as propriedades hepatotóxicas das moléculas, constatou-se que o composto **74** é considerada inativa. Isso sugere que essa substância não apresenta efeitos adversos específicos no fígado, o que é encorajador do ponto de vista da segurança hepática (ARNESDOTTER *et al.*, 2021).

No que se refere à carcinogenicidade, constatou-se que **74** é classificada como inativa. Isso indica uma baixa probabilidade dessa substância induzir efeitos carcinogênicos em células ou tecidos (TCHEREMENSKAIA *et al.*, 2019).

Quanto à imunotoxicidade, a análise revela que **74** é considerada ativa. Isso sugere que essa substância pode ter um impacto sobre o sistema imunológico, possivelmente desencadeando respostas imunológicas específicas. A presença de atividade imunotóxica destaca a necessidade de uma análise mais aprofundada dos mecanismos imunológicos envolvidos e dos possíveis efeitos adversos relacionados (HU *et al.*, 2020).

No que diz respeito à mutagenicidade, **74** é considerada inativa. Isso indica que essa substância não apresenta potencial para causar danos no material genético ou induzir mutações, o que é um fator positivo em termos de biossegurança (BANERJEE *et al.*, 2018).

A citotoxicidade da molécula foi avaliada, revelando classificação como inativa. Isso indica que não apresenta toxicidade direta e indireta em células, o que é encorajador para seu uso potencial em aplicações biológicas (FARAHANI; SOHRABI e GHASEMI, 2018).

Todos os dados são propostos com base em Drwall e colaboradores (2014).

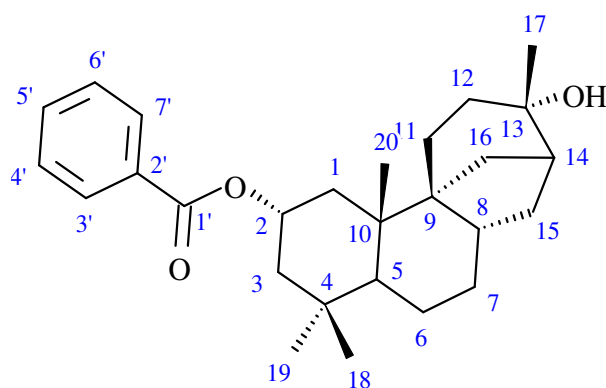
5.4 – Obtenção de STEM-Bz

A reação de benzoilação da estemodina (10 mg) levou à obtenção de 11,20 mg de STEM-Bz (83,60% rendimento) na forma de um sólido de coloração branca e caráter amorfo com ponto de fusão entre 117,8 °C e 118,0 °C. A reação de esterificação da estemodina ocorre em hidroxila no C₂ (hidroxila secundária), pois se apresenta como um nucleofílico menos impedido se comparado com a hidroxila em C₁₃ (hidroxila terciária), que apresenta maior impedimento estérico proporcionado pelo grupo metila. A reação procede levando à formação majoritária do produto monobenzoilado (**74**). O produto dibenzoilado é formado em menor quantidade, mas não apresenta interesse à pesquisa por não apresentar atividade anticancerígena *in silico* considerável (energia de estabilidade do complexo originado igual a -8,19±0,00 kcal.mol⁻¹).

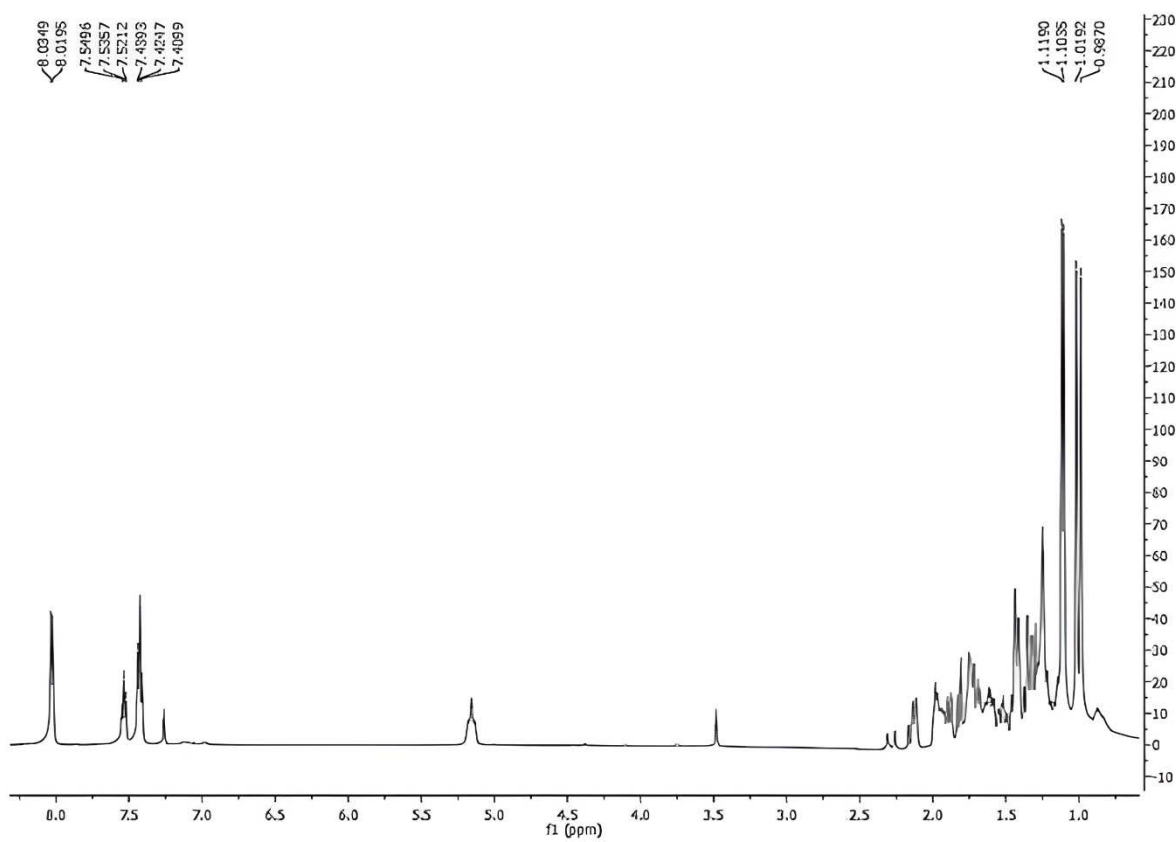
5.5 – Caracterização de STEM-Bz (**74**)

Os espectros de RMN ¹H e RMN ¹³C, HMQC e HMBC, das Figuras 23 a 26, correspondem ao produto STEM-Bz (**74**) (Figura 22).

Figura 22: Estrutura química de STEM-Bz (**74**)

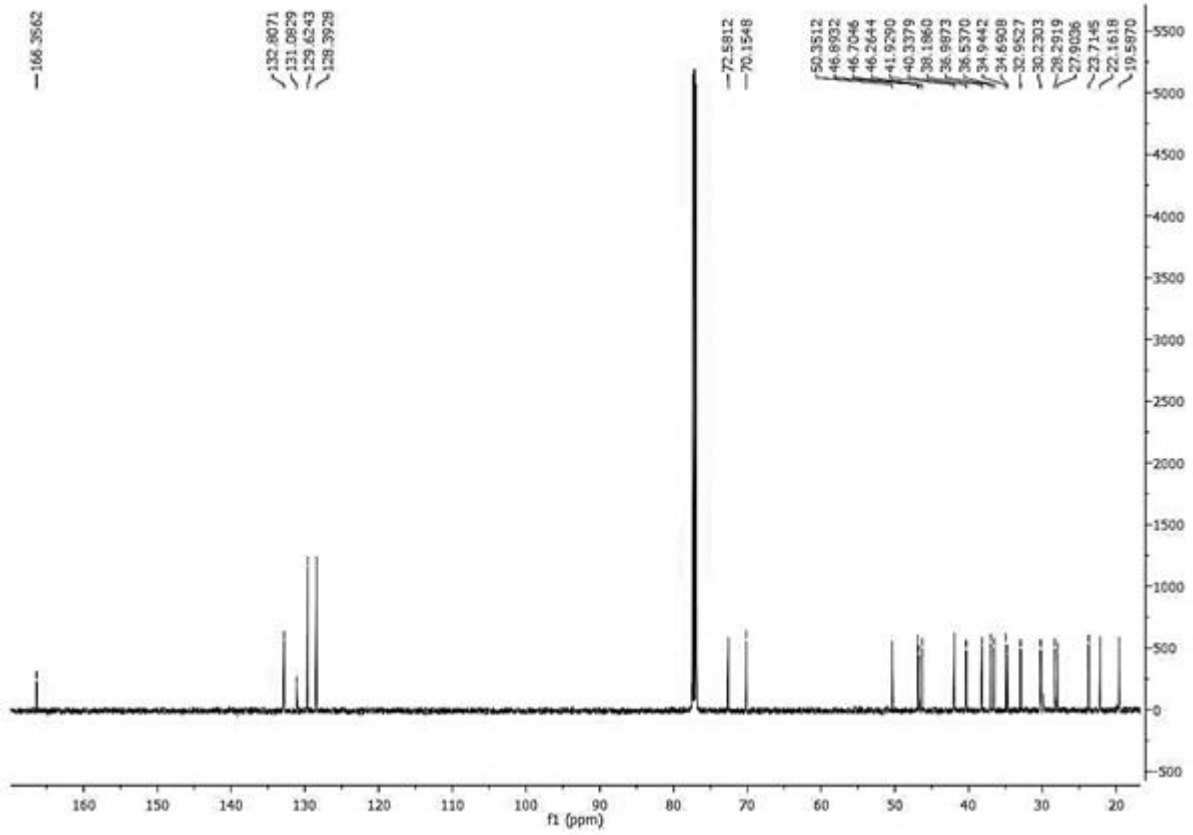


Fonte: Elaborado pelo Autor (2024)

Figura 23: Espectro de RMN de ^1H de STME-Bz (**74**) ($\text{CDCl}_3/500\text{ MHz}$)

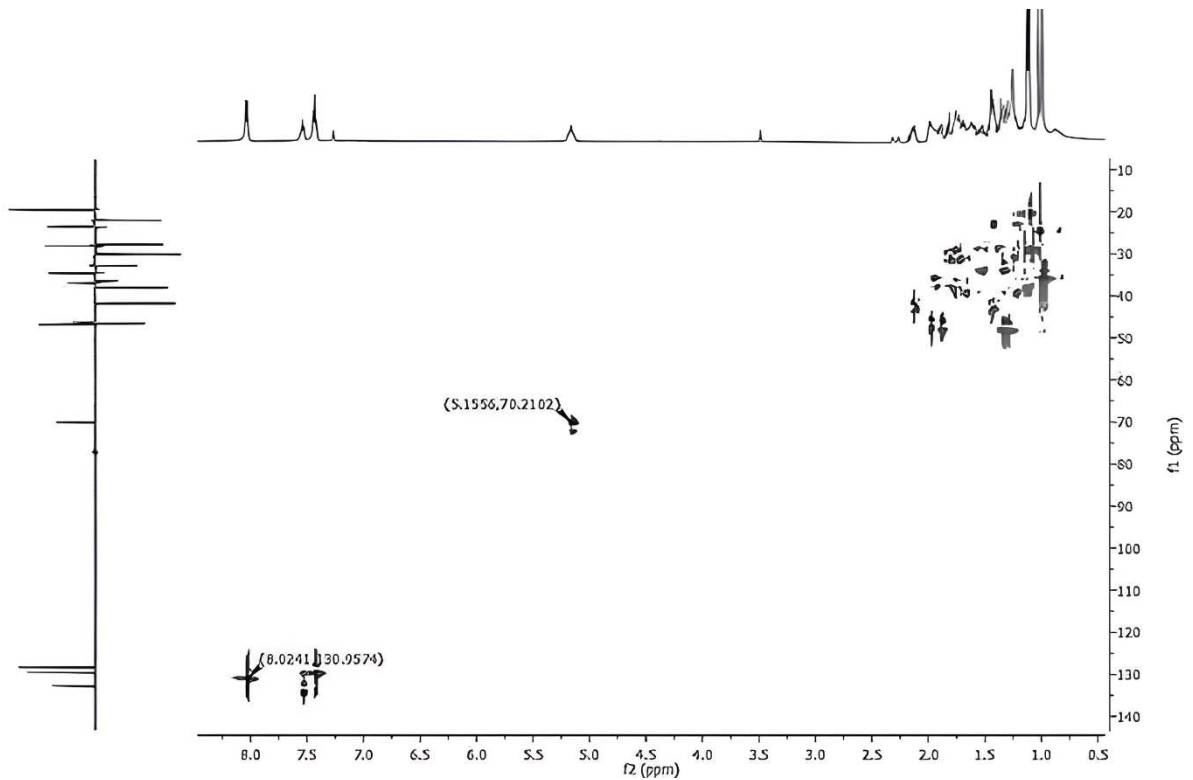
Fonte: Elaborado pelo Autor (2024)

Figura 24: Espectro de RMN de ^{13}C de STME-Bz (**74**) ($\text{CDCl}_3/500\text{ MHz}$)



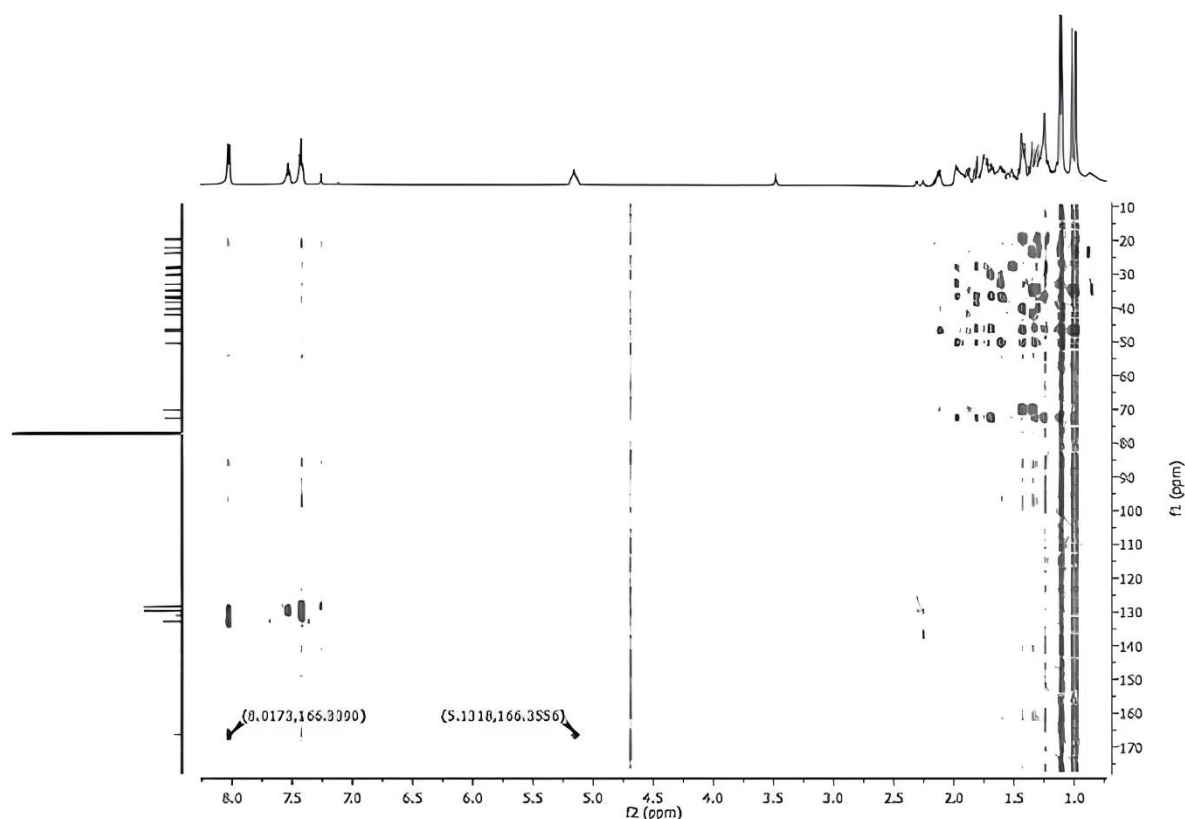
Fonte: Elaborado pelo Autor (2024)

Figura 25: Espectro de RMN 2D ^1H - ^{13}C HMQC de STME-Bz (**74**) ($\text{CDCl}_3/500/125\text{ MHz}$)



Fonte: Elaborado pelo Autor (2024)

Figura 26: Espectro de RMN 2D ^1H - ^{13}C HMBC de STME-Bz (**74**) ($\text{CDCl}_3/500/125$ MHz)



Fonte: Elaborado pelo Autor (2024)

No espectro de RMN ^1H ($\text{CDCl}_3/500$ MHz) de STEM-Bz (**74**) (Figura 22) observou-se o surgimento dos sinais em δ_{H} 8,03 (H_3 e H_7 , d, $J = 7,74$ Hz), 7,42 (H_4 e H_6 , t, $J = 7,33$ Hz) e 7,54 (H_5 , t, $J = 7,01$ Hz), que caracterizam o anel benzênico, e o deslocamento do sinal em δ_{H} 3,74 (H_2 , m, 1H) para δ_{H} 5,16 (H_2 , t, $J = 11,53$ Hz), em virtude do efeito anisotrópico da carbonila.

No espectro de RMN ^{13}C BB-desacoplado (BBD) ($\text{CDCl}_3/125$ MHz) de STEM-Bz (**74**) (Figura 23), foi possível observar o deslocamento do sinal de C_2 , em δ_{C} 65,47 ppm, para δ_{C} 70,15 ppm por consequência da esterificação da hidroxila. Ademais, foram analisados a permanência do sinal em C_{13} (δ_{C} 72,58 ppm) reforçando a modificação estrutural apenas em C_2 , não originando o composto dibenzoilado.

Além disso, foi observado o surgimento de um sinal característico de carbono carbonílico de éster em δ_{C} 166,36 ppm e os sinais em δ_{C} 132,81, 131,08, 129,62 e 128,39 ppm relativos a carbonos sp^2 do anel aromático.

No HSQC, ilustrado na Figura 24, foram observadas correlações entre os sinais em δ_H 5,16 (H₂) e δ_C 70, 21 ppm (C₂) e em δ_H 8,02 (H_{3'}) e δ_C 130,96 ppm (C_{3'}), evidenciando a esterificação e a introdução do grupo aromático, respectivamente.

Por sua vez, no HMBC, ilustrado na Figura 25, foram observadas correlações J^3 entre os sinais em δ_H 5,13 (H₂) e δ_C 166,36 ppm (C_{1'}) e em δ_H 8,02 (H_{3'}) e δ_C 166,36 ppm (C_{1'}), confirmando a regiosseletividade da reação.

6. CONCLUSÃO

Através da construção e análise de um mapa de interactomas do câncer colorretal, foi possível identificar a via *PI3K/AKT* como uma estratégia terapêutica potencial para estudos *in silico* enfatizando a inibição de células cancerígenas HCT-116 a partir da regulação de *PI3K α* .

Nesse contexto, análise da atividade *in silico* e *in vitro* de derivados oxímicos da estemodina, cujas atividades anticancerígenas são relatadas na literatura, foi essencial para a projeção de um novo derivado estemodano inédito com maior potencial bioativo, o análogo **74**. Os dados de *docking molecular* possibilitaram identificação de regiões de aromaticidade no sítio ativo da macromolécula (*PI3K α*). Interações alquílicas, pi-alquílicas e pi-pi forma de T consolidaram a forte estabilidade na formação do complexo 7R9V-**74** e impulsionaram o potencial bioativo do ligante estemodano em regular a atividade da enzima.

Esse estudo *in silico* simulou um IC₅₀ de 14,69 μ M para o composto benzoilado da estemodina (**74**), mostrando-se mais efetivo em relação aos análogos oxímicos da estemodanos (**59-67**).

Além disso, o composto benzoilado da estemodina (**74**) também apresentou perfil farmacocinético ideal, avaliando o potencial de absorção, distribuição, metabolismo e excreção no organismo humano. Apesar do qual, é relevante mencionar que o estemodano **74** pode apresentar efeitos colaterais adversos quando administrado com outras substâncias ativas e em concentrações elevadas.

O derivado **74** também se apresentou como uma substância não tóxica, não se acumulando no organismo humano e não afetando outros processos biológicos, constituindo-se como um promissor composto bioativo de potencial anticancerígeno.

O estemodano **74** foi produzido a partir da benzoilação da estemodina e isolado em rendimento satisfatório e caracterizado através de técnicas espectrométricas.

É substancial mensurar sobre a importância do desenvolvimento de novas substâncias bioativas usando a Química Computacional Medicinal como base. Nisso, novas substâncias de potencial biológico aprimorado podem ser produzidas, avaliando rotas enzimáticas como mecanismo de ação. Estudos *in silico* podem reduzir tempo gasto em laboratório, economizar o uso de reagentes e solventes e potencializar resultados.

REFERÊNCIAS

- AHARONI, A.; GALILI, G. Metabolic engineering of the plant primary-secondary metabolism interface. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 22, n. 2, p. 239-244, 2011.
- ALLEN, J. G.; MITCHELL, A. A. A newly discovered toxic plant, *Stemodia kingii*, in Western Australia. **Toxic plants and other natural toxicants**, v. 1, n. 1 p. 120-124, 1998.
- ALLISON, B. J.; ALLENBY, M. C.; BRYANT, S. S.; MIN, J. E.; HIEROMNIMON, M.; JOYNER, Matthew P. Antibacterial activity of fractions from three Chumash medicinal plant extracts and in vitro inhibition of the enzyme enoyl reductase by the flavonoid jaceosidin. **Natural product research**, v. 6, p. 707-712, 2017.
- ALZHRANI, A. S. PI3K/Akt/mTOR inhibitors in cancer: At the bench and bedside. In: **Seminars in cancer biology**. Academic Press, v. 59, p. 125-132, 2019
- ANDRADE, E. L.; MEOTTI, F. C.; CALIXTO, J. B. TRPA1 antagonists as potential analgesic drugs. **Pharmacology and Therapeutics**, v. 133, p. 189–204, 2012.
- ARAGÃO, I. C. S. A; TEIXEIRA, L. D. R. M.; RAMOS, R. V.; PEIXOTO, J. P.; ASSIS, B. R. Obstrução intestinal do cólon e retossigmoidectomia na emergência: uma análise sobre câncer de Cólon. **Caminhos da Clínica**, v. 1, n. 1, 2022.
- ARNESDOTTER, E.; SPINU, N.; FIRMAN, J.; EBBRELL, D.; CRONIN, M. T.; VANHAECKE, T.; VINKEN, M. Derivation, characterisation and analysis of an adverse outcome pathway network for human hepatotoxicity. **Toxicology**, v. 459, p. 152856, 2021.
- ARRIAGA, A. M. C.; RODRIGUES, F. E. A.; LEMOS, T. L. G.; OLIVEIRA, M. C. F.; LIMA, J. Q.; SANTIAGO, G. M. P.; MAFEZOLI, J.; BRAZ-FILHO, R. Composition and Larvicidal Activity of Essential Oil from *Stemodia maritima* L. **Natural product communication**, v. 2, n. 12, p. 1237-1239, 2007.
- ASTRAKAS, L.; GOUSIAS, C.; TZAPHLIDOU, M. Electric field effects on chignolin conformation. **Journal of Applied Physics**, v. 109, n. 9, Article 094702, 2011.
- BARALDI, P. G.; PETRI, D.; MATERAZZI, S.; GEPPETTI, P. Transient receptor potential ankyrin 1 (TRPA1) channel as emerging target for novel analgesics and anti-inflammatory agents. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 53, p. 5085–5107, 2010.
- BANERJEE, P.; ECKERT, A. O.; SCHREY, A. K.; PREISSNER, R. ProTox-II: a webserver for the prediction of toxicity of chemicals. **Nucleic acids research**, v. 46, n. W1, p. W257-W263, 2018.
- BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. Química Medicinal: as bases moleculares da ação dos fármacos. **Artmed Editora Ltda**: Porto Alegre, v. 25, n. 1, p. 39-44, 2001.
- BECKETT, A. H.; CASY, A. F. Synthetic analgesics: stereochemical considerations. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 6, n. 12, p. 986-1001, 1954.

BELL, D. S. H.; GONCALVES, E. Atrial fibrillation and type 2 diabetes: prevalence, etiology, pathophysiology and effect of anti-diabetic therapies. **Diabetes, Obesity and Metabolism**, v. 21, n. 2, p. 210-217, 2019.

BENET, L. Z.; LIU, S.; WOLFE, A. R. The universally unrecognized assumption in predicting drug clearance and organ extraction ratio. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, v. 103, n. 3, p. 521-525, 2018.

BORGES, K. B.; BORGES, W. S.; DURÁN-PATRÓN, R.; PUPO, M. T.; BONATO, P. S.; COLLADO, I. G. Stereoselective biotransformations using fungi as biocatalysts. **Tetrahedron: Asymmetry**, v. 20, p. 385–397, 2009.

BOWMAN, C. M.; BENET, L. Z. An examination of protein binding and protein-facilitated uptake relating to in vitro-in vivo extrapolation. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 123, p. 502-514, 2018.

BRAHMACHARI, G. Discovery and Development of Neuroprotective Agents From Natural Products: An Overview. **Science Direct**,

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.

BRAZ-FILHO, R. Contribuição da fitoquímica para o desenvolvimento de um país emergente. **Química Nova, São Paulo**, v. 33, n. 1, p. 229–239, 2010.

BREBERINA, L. M.; ZLATOVIĆ, M. V.; NIKOLIĆ, M. R.; STOJANOVIĆ, S. Đ. Computational Analysis of Non-covalent Interactions in Phycocyanin Subunit Interfaces. **Molecular Informatics**, v. 38, n. 11-12, p. 1800145, 2019.

BRESNICK, A. R.; BACKER, J. M. PI3K β —A versatile transducer for GPCR, RTK, and small GTPase signaling. **Endocrinology**, v. 160, n. 3, p. 536-555, 2019.

BUCHANAN, G. O.; REESE, P. B. Biotransformation of diterpenes and diterpene derivatives by *Beauveria bassiana* ATCC 7159. **Phytochemistry**, v. 56, n. 4, p. 141-151, 2001.

CERÓN, D. A. C. **Toxicidade do isotiocianato de alilo com e sem recirculação no controle de insetos em milho armazenado**, 2022. 54 f. Dissertação de Mestrado em Engenharia Agrícola - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2022.

CHAMY, M. C.; PIOVANO, M.; GARBARINO, J. A.; GAMBARO, V. Stemodane diterpenoids from *Stemodia chilensis*. **Phytochemistry**, v. 30, n. 5, p. 1719-1721, 1991.

CHEN, B. L.; WANG, Y. J.; GUO, H.; ZENG, G. Y. Design, synthesis, and biological evaluation of crenatoside analogues as novel influenza neuraminidase inhibitors. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 109, p. 199-205, 2016.

CHRISTENSEN, B. J.; PARK, E. P.; SUAUI, S.; BERAN, D.; KING, B. J. Evidence-based clinical criteria for computed tomography imaging in odontogenic infections. **Journal of Oral Maxillofacial Surgery**, v. 2, n. 77, p. 299-306. 2019.

CRAGG, G. M.; NEWMAN, D. J. Natural products: a continuing source of novel drug leads. **Biochimica et BIOPHYSICA ACTA**, v. 1830, n. 6, p. 3670-3695, 2013.

DARZYNKIEWICZ, Z.; HALICKA, H. D.; ZHAO, H.; PODHORECKA, M. Cell synchronization by inhibitors of DNA replication induces replication stress and DNA damage response: analysis by flow cytometry, **Methods in Molecular Biology**, v. 761, s. 1., p. 85–96, 1991.

DA SILVA, F. A.; DUARTE, H. K. O. S.; RAIMUNDO, R. J. S. Estudo sobre automedicação no uso de antiinflamatórios não esteroídes na cidade de Valparaíso de Goiás. **Revista Saúde e Desenvolvimento**, v. 9, n. 5, 2016.

DAVID, B.; WOLFENDER, J.; DIAS, D. A. The pharmaceutical industry and natural products: historical status and new trends. **Phytochemistry Reviews**, v. 14, p. 299-315, 2015.

DE BARROS, G. A. M.; CALONEGO, M. A. M.; MENDES, R. F.; CASTRO, R. A. M.; FARIA, J. F. G.; TRIVELLATO, S. A.; CAVALCANTE, R. S.; FUKUSHIMA, F. B.; DIAS, A. Uso de analgésicos e o risco da automedicação em amostra de população urbana: estudo transversal. **Brazilian Journal of Anesthesiology**, v. 529, n. 6, p. 529-536, 2019.

DONG, X. Current strategies for brain drug delivery. **Theranostics**, v. 8, n. 6, p. 1481, 2018.

FAN, J.; FU, A.; ZHANG, L. Progress in molecular docking. **Quantitative Biology**, v. 7, n. 2, p. 83–89, 2019.

FARAHANI, S. R.; SOHRABI, M. R.; GHASEMI, J. B. A detailed structural study of cytotoxicity effect of ionic liquids on the leukemia rat cell line IPC-81 by three dimensional quantitative structure toxicity relationship. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 158, p. 256-265, 2018.

FATTAHI, S.; AMJADI-MOHEB, F.; TABARIPOUR, R.; ASHRAFI, G. H.; AKHAVANNIAKI, H. PI3K/AKT/mTOR signaling in gastric cancer: Epigenetics and beyond. **Life sciences**, v. 262, p. 118513, 2020.

FERNANDES, E. S.; RUSSELL, F. A.; ALAWI, K. M.; SAND, C.; LIANG, L.; SALAMON, R.; BODKIN, J. V.; AUBDOOL, A. A.; ARNO, M.; GENTRY, C.; SMILLIE, S. J.; BEVAN, S.; KEEBLE, J. E.; MALCANGIO, M.; BRAIN, S. D. Environmental cold exposure increases blood flow and affects pain sensitivity in the knee joints of CFA-induced arthritic mice in a TRPA1-dependent manner. **Arthritis research & therapy** v. 18, n. 7, 2016.

FERNÁNDEZ-CARVAJAL, A.; GONZÁLEZ-MUÑIZ, R.; FERNANDEZ-BALLESTER, G.; FERRER-MONTIEL, A. Investigational drugs in early phase clinical trials targeting thermotransient receptor potential (thermoTRP) channels. **Expert Opinion on Investigational Drugs**, v. 29, p. 1209–1222, 2020.

FERREIRA, N.; MIRANDA, C.; LEITE, A.; REVÉS, L.; SERRA, I.; FERNANDES, A. P.; FREITAS, P. T. Dor e analgesia em doente crítico-painand analgesia in critical illness. **Revista Clínica do Hospital Prof. Doutor Fernando Fonseca**, v. 2, n. 2, p. 17-20, 2015

FÍGUN, M. E.; GARINO, R. R. Artrologia: Anatomía Odontológica Funcional e Aplicada. **Editorial Médica Panamericana**, v. 3, n. 1, p. 44-60, 1994.

FISCHER, E. Einfluss der Configuration auf die Wirkung der Enzyme. **Berichte Der Deutschen Chemischen Gesellschaft**, v. 27, n. 3, p. 2985–2993, 1894.

FLÓRIO, V. Raízes do estar bem. **Ciência e Cultura**, v. 71, n. 2, p. 17-18, 2019.

FROTA, L.S.; ROCHA, M.N.; BEZERRA, L.L.; FONSECA, A.M.; MARINHO, E.S. MORAIS, S.M. HIF1 inhibition of the biflavonoids against pancreas cancer: drug-likeness, bioavailability, ADMET, PASS, molecular docking, molecular dynamics, and MM/ GBSA calculations, **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics**, v. 1, n. 12, 2022.

FU, X.; LIN, H.; FAN, X.; ZHU, Y.; WANG, C.; CHEN, Z.; TAN, X.; HUANG, J.; CAI, Y.; HUANG, Y. The spectrum, tendency and predictive value of PIK3CA mutation in Chinese colorectal cancer patients. **Frontiers in Oncology**, v. 11, p. 595675, 2021.

GAN, N.; SUN, Q.; SUO, Z.; ZHANG, S.; ZHAO, L.; XIANG, H.; WANG, W.; LI, Z.; LIAO, X.; LI, H. How hydrophilic group affects drug–protein binding modes: Differences in interaction between sirtuins inhibitors Tenovin-1/Tenovin-6 and human serum albumin. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 201, p. 114121, 2021

GAO, W.; LIN, Y.; LIANG, Y.; WANG, Y.; JIANG, L.; WANG, Y.; JIANG, G. Percutaneous penetration and dermal exposure risk assessment of chlorinated paraffins. **Journal of Hazardous Materials**, v. 416, p. 126178, 2021.

GAO, X.; KIM, H. K.; CHUNG, J. M.; CHUNG, K. Reactive oxygen species (ROS) are involved in enhancement of NMDA-receptor phosphorylation in animal models of pain. **Pain**, v. 131, p. 262-271, 2007.

GASHTI, S. M.; TONDO, A. L. C.; FREITAG, I.; DE ARAÚJO, J. M. M.; ROCHEMBACK, L.; ORTH, L.; PAREJA, H. B. J. Câncer colorretal: principais complicações e a importância do diagnóstico precoce. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, v. 13, n. 4, 2021, e6888-e6888.

GHODSINIA, A. A.; LEGO, J. A. M. T.; GARCIA, R. L. Mutation-associated phenotypic heterogeneity in novel and canonical PIK3CA helical and kinase domain mutants. **Cells**, v. 9, n. 5, p. 1116, 2020.

GOMEZ-GALENO, J.; OKOLOTOWICZ, K.; JOHNSON, M.; MCKEITHAN, W. L.; MERCOLA, M.; CASHMAN, J. R. Human-induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes: Cardiovascular properties and metabolism and pharmacokinetics of deuterated mexiletine analogs. **Pharmacology Research & Perspectives**, v. 9, n. 4, p. e00828, 2021.

HASSLER, M. World Plants: Synonymic Checklists of the Vascular Plants of the World. In: ROSKOV, Y.; ABUCAY, L.; ORRELL, T.; NICOLSON, D.; BAILLY, N.; KIRK, P. M.; BOURGOIN, T.; DEWALT, R. E.; DECOCK, W.; DE WEVER, A.; NIEUKERKEN, E.; VAN ZARUCCHI, J.; PENEV, L. Species 2000 & ITIS Catalogue of Life, **Naturalis, Leiden, the Netherlands**, 2018. Disponível em: www.catalogueoflife.org/annual-checklist/2018. Acessado em 26 de outubro de 2022.

HOFFER, L.; MILLER, C.; ROCHE, P.; MORELLI, X. Chemistry-driven Hit-to-lead Optimization Guided by Structure-based Approaches. **Molecular Informatics**, [S.L.], v. 37, n. 9-10, p. 1800059, 2018. Wiley.

HOFFMANN, T; GASTREICH, M. The next level in chemical space navigation: going far beyond enumerable compound libraries. **Drug discovery today**, v. 24, n. 5, p. 1148-1156, 2019.

HOLANDA, V. N. ONE STEP BEFORE THE WORKBENCH: THE USE OF CHEMINFORMATICS TOOLS IN DRUG DISCOVERY. **Revista Interfaces: Saúde, Humanas e Tecnologia**, v. 9, n. 2, p. 995-996, 2021.

HUANG, Y.; LIU, Z. Nonnative interactions in coupled folding and binding processes of intrinsically disordered proteins. **PLoS One**, v. 5, n. 11, p. e15375, 2010.

HU, D.; ZHANG, W.; TANG, J.; ZHOU, Z.; LIU, X.; SHEN, Y. Improving safety of cancer immunotherapy via delivery technology. **Biomaterials**, v. 265, p. 120407, 2021.

HUFFORD, C. D.; GUERRERO, R. O.; DOORENBOS, N. J. Two new diterpenes from *Stemodia maritima* L. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, [s. l.], v. 65, n. 5, p. 778-80, 1976.

HUFFORD, C. D.; GUERRERO, R. O.; DOORENBOS, N. J. Two new diterpenes from *Stemodia marítima* L. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 65, n. 4, p. 778-780, 1976.

HUFFORD, C. D.; BADRIA, F. A.; ABOU-KARAM, M.; SHIER, W. T.; ROGERS, R. D. Preparation, characterization and antiviral activity of microbial metabolites of stemodin. **Journal of Natural Products**, v. 54, n. 6, p. 1543-1552, 1991.

JIN, D.; GAO, Z.; LIU, L.; CAO, S.; XU, X.; HOU, X.; ZHENG, T.; JIANG, L.; ZHU, D.; WANG, S. Total Synthesis of (±)-Furanether A. **Organic Letters**, v. 23, n. 22, p. 8843-8846, 2021.

JOLY, A. B. Botânica: Introdução à Taxonomia Vegetal. **São Paulo: Companhia Editora Nacional**, v. 11, n. 4, p. 777, 1993.

JULIUS, D. TRP channels and pain. **Annual Review of Cell and Developmental Biology**, v. 29, p. 355–384, 2013.

JUVONEN, R. O.; AHINKO, M.; JOKINEN, E. M.; HUUSKONEN, J.; RAUNIO, H.; PENTIKAINEN, O. T. Substrate selectivity of coumarin derivatives by human CYP1 enzymes: in vitro enzyme kinetics and in silico modeling. **ACS omega**, v. 6, n. 17, p. 11286-11296, 2021.

KAWASHIMA, M. Prediction of Dissociation Constant in Protein-Ligand Interaction. **ChemRxiv**, v. 1, 2021.

KAZLAUSKAS, R. Engineering more stable proteins. **Chemical Society Reviews**, v. 47, n. 24, p. 9026-9045, 2018.

LAMM, A. S.; REYNOLDS, W. F.; REESE, P. B. Bioconversion of Stemodia maritima diterpenes and derivatives by *Cunninghamella echinulata* var. *elegans* and *Phanerochaete chrysosporium*. **Phytochemistry**, v. 67, p. 1088–1093, 2006.

LORDANSKII, A. L.; ZAIKOV, G.; RUDAKOVA, T. E. **Interactions of Polymers with Bioactive and Corrosive Media**. CRC Press, 2023.

LUBIS, A. M.; MARUANAYA, S.; TANTRI, A. R.; PONTOH, L. A. P.; IFRAN, N. N. P. P. S. The Use of Combination Paracetamol and Ibuprofen in Postoperative Pain after Total Knee Arthroplasty, a Randomized Controlled Trial. **Pain Physician**, v. 24, n. 140, p. 1199-1204, 2021.

MANCHAND, P. S.; WHITE, J. D.; WRIGHT, H.; CLARDY, J. Structures of stemodin and stemodinone. **Journal of the American Chemical Society**, [s. l.], v. 95, n. 8, p.2705-2706, 1973.

MANCHAND, P. S.; BLOUNT, J. F. X-ray structure and absolute stereochemistry of stemarin, a diterpene with a new skeleton. **Journal of The Chemical Society. Chemical Communications**, [s. l.], v. 5, n. 21, p. 894-895, 1975.

MANCHAND, P. S.; BLOUNT, J. F. X-ray structure and absolute stereochemistry of stemolide, a novel diterpene bisepoxide. **Tetrahedron Letters**, [s. l.], v. 17, n. 29, p. 2489-2492, 1976.

MANCHAND, P. S.; WHITE, J. D.; WRIGHT, H.; CLARDY, J. Structures of stemodin and stemodinone. **Journal of American Chemical Society**, v. 93, n. 2, p. 2705-2706, 1973.

MARTINS, J. P. A.; FERREIRA, M. C. QSAR modeling: um novo pacote computacional open source para gerar e validar modelos qsar. **Química Nova**, [S.L.], v. 36, n. 4, p. 554-560, 2013. FapUNIFESP (SciELO)

MATHUR, S.; HOSKINS, C. Drug development: lessons from nature (Review). **Biomedical Reports**, v. 6, n. 6, p. 612-614, 2017.

MATTHEW, E. M.; YEN, T. J.; DICKER, D. T.; DORSEY, J. F.; YANG, W.; NAVARAJ, A.; ELDEIRY, W. S. Replication stress, defective S-phase checkpoint and increased death in Plk2-deficient human cancer cells, **Cell Cycle**, v. 6, n. 20, p. 2571–2578, 2007.

MELLO, M. R. S. P. D.; MOURA, S. F.; MUZI, C. D.; GUIMARÃES, R. M. Clinical evaluation and pattern of symptoms in colorectal cancer patients. **Arquivos de gastroenterologia**, v. 57, p. 131-136, 2020.

MELQUIDE, J. E.; SANTOS, J. Q.; SANTOS, N. R.; SOUSA, T. M. M.; OLIVEIRA, T. C.; JUNIOR, G. G. S. Química medicinal e o desenvolvimento de novos fármacos. In: **Forum Rondoniense de Pesquisa**, v. 4, n. 9, 2024.

MIOTI, A. G. X.; DE CASTRO, G. F. P. Alterações hematológicas induzidas por antiinflamatórios não-esteroidais. **Revista Transformar**, v. 10, s.n., p. 170-183, 2017

MOLLAZADEH, S.; SAHEBKAR, A.; HADIZADEH, F.; BEHRAVAN, J.; ARABZADEH, S. Structural and functional aspects of P-glycoprotein and its inhibitors. **Life sciences**, v. 214, p. 118-123, 2018.

MONTEIRO, S. C.; BRANDELLI, C. L. C. Farmacobotânica: aspectos Teóricos e aplicação. **Porto Alegre: Artmed**, 2018.

MONTRUCCHIO, D. P.; CÓRDOVA, M. M.; SOARES, A. R. S. Plant Derived Aporphinic Alkaloid S-(+)-Dicentrine Induces Antinociceptive Effect in Both Acute and Chronic Inflammatory Pain Models: Evidence for a Role of TRPA1 Channels. **PLoS ONE**, v. 8, p. 2–10, 2013.

MORAN, M. M.; MCALEXANDER, M. A.; BÍRÓ, T.; SZALLASI, A. Transient receptor potential channels as therapeutic targets. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 10, p. 601–620, 2011.

MORAN, M. M.; SZALLASI, A. Targeting nociceptive transient receptor potential channels to treat chronic pain: current state of the field. **British Journal of Pharmacology**, v. 175, p. 2185-2203, 2018.

MORELAND, N. J.; ILLAND, M.; KIM, Y. T.; PAUL, J.; BROWN, R. Modulation of drug resistance mediated by loss of mismatch repair by the DNA polymerase inhibitor aphidicolin, **Cancer Research**, v. 59, n. 9, p. 2102–2106, 1999.

MORI, Y.; TAKAHASHI, N.; POLAT, O. K.; KUROKAWA, T.; TAKEDA, N.; INOUE, M. Redoxsensitive transient receptor potential channels in oxygen sensing and adaptation. **Pflugers Archiv European Journal of Physiology**, v. 468, n. 85–97, 2016.

NARAYANANKUTTY, A. PI3K/Akt/mTOR pathway as a therapeutic target for colorectal cancer: a review of preclinical and clinical evidence. **Current drug targets**, v. 20, n. 12, p. 1217-1226, 2019.

OLIVEIRA, J. A. C. Semissíntese de compostos bioativos a partir de orodutos naturais: obtenção de derivados da estemodina. Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós Graduação em Química, **Universidade Federal do Ceará**, 2021.

OLIVEIRA, J. A. C.; FILHO, C. J. A.; LIMA, A. M. A.; PESSOA, C. O.; OLIVEIRA, F. C. E.; MIRANDA, F. N.; MATTOS, M C.; OLIVEIRA, M. C. F.; MAFEZOLI, J.; BARBOSA, F. G. Semisynthesis and Cytotoxic Activities of Novel Oxime Ester Derivatives of the Diterpene Stemodin. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 0, n. 0, p. 1-8, 2024.

OLSON, A.; DESTEFANIS, R.; DEZEEUW, A.; PAYNE, S.; PASCH, C.; CLIPSON, L.; DEMING, D. MTORC1/2 and HDAC1/2 inhibition as therapy for colorectal cancer with PIK3CA mutation. **Cancer Research**, v. 82, n. 12_Supplement, p. 3721-3721, 2022.

OTLES, S.; ÖZYURT, V. H. Biotransformation in the production of secondary metabolites. **Studies in Natural Products Chemistry**, v. 68, p. 435-457, 2021.

PANFOLI, I.; CANDIANO, G.; MALOVA, M.; DE ANGELIS, L.; CARDIELLO, V.; BUONOCORE, G.; RAMENGLI, L. A. Oxidative Stress as a Primary Risk Factor for Brain Damage in Preterm Newborns. **Frontiers in Pediatrics**, v. 0, p. 369, 2018.

PARADA, C. A.; TAMBELI, C. H.; CUNHA, F. Q.; FERREIRA, S. H. The major role of peripheral release of histamine and 5-hydroxytryptamine in formalin-induced nociception. **Neuroscience**, v. 102; p. 937-944. 2001.

PEARSON, A. J.; FANG, X. A Synthesis of (\pm) Stemodinone: An Application of Organoiron Chemistry to the Construction of Sterically Congested Quaternary Carbon Centers. **Journal of Organic Chemistry**, v. 62, n. 7, p. 5284-5292, 1997.

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

RAMESH, P.; NAIR, A. G. R.; SUBRAMANIAN, S. S. Flavonoids of *Scoparia dulcis* and *Stemodia viscosa*. **Current Science**, v. 48, n. 2, p. 67, 1979.

RATHINASWAMY, M. K.; BURKE, J. E. Class I phosphoinositide 3-kinase (PI3K) regulatory subunits and their roles in signaling and disease. **Advances in Biological Regulation**, v. 75, p. 100657, 2020.

ROCHA, M. N.; MARINHO, M. M.; SANTOS, H. S.; MARINHO, E. S.; JUNIOR, J. I.; ROSAS, J. F.; COUTINHO, H. D. M. Structure-based virtual screening of new antitumor natural berberines: Bioactivity against pancreas cancer by HIF1 inhibition effect. **Journal of Molecular Structure**, v. 1294, n. 1, 15, Article 136508, 2023.

RODRIGUES, F. E. A. LIMA, J. Q.; OLIVEIRA, M. C. F.; VASCONCELOS, J. N.; SANTIAGO, G. M. P.; MAFEZOLI, J.; BRAZ-FILHO, R.; ARRIAGA, A. M. C. Diterpene and other constituents from *Stemodia maritima* (Scrophulariaceae). **Jornal of the Brazilian Chemical Society**, [s. l.], v. 21, n. 8, p. 1581-1586, 2010.

RODRIGUES, F. E. A.; LIMA, J. Q.; SANTIAGO, G. M. P.; MAFEZOLI, J., BRAZ-FILHO, R., ARRIAGA, A.M.C. Diterpene and other Constituents from *Stemodia maritima* (Scrophulariaceae). **Journal of Brazilian Chemical Society**, v. 21, n. 8, 2010.

ROSENBAUER, K. A.; ENGELHARDT, J.P.; KACH, H.; STUTTGEN, U. O sistema estomatognático como unidade funcional: Anatomia Clínica da Cabeça e do Pescoço aplicada à Odontologia. **Artmed**, v. 21, n. 1, p. 228-248, 2001.

RUSSEL, F. A.; MULABAGAL, V.; THOMPSON, D. R.; SINGH-WILMOT, M.; REYNOLDS, W. F.; NAIR, M. G.; LANGER, V.; REESE, P. B. Stemodin-derived analogues with lipid peroxidation, cyclooxygenase enzymes and human tumour cell proliferation inhibitory activities. **Phytochemistry**, v. 72, p. 2361–2368, 2011.

SAHU, P. K.; SAHU, P. K.; SAMADHIYA, P.; SAHU, P. L.; AGARWAL, D. D. POM analyses and evaluation of in vitro antimicrobial, antitumor activity of 4Hpyrimido[2,1-b] benzothiazole derivatives. **Medicinal Chemistry Research**, v.1, n.1, p.1-13, 2016.

SANAEI, M. J.; BAGHERY SAGHCHY KHORASANI, A.; POURBAGHERI-SIGAROODI, A.; SHAHROKH, S.; ZALI, M. R.; BASHASH, D. The PI3K/Akt/mTOR axis in colorectal cancer: Oncogenic alterations, non-coding RNAs, therapeutic opportunities, and the emerging role of nanoparticles. **Journal of Cellular Physiology**, v. 237, n. 3, p. 1720-1752, 2022.

SANDOVAL, A. C.; FERNANDES, D. R.; SILVA, E. A.; JÚNIOR, A. T. T. O uso indiscriminado dos Anti-Inflamatórios Não Esteroidais (AINES). **Revista Científica FAEMA**, v. 8, n. 2, 2017.

SANTOS, C. M. F. **Estudo da estimulação elétrica nervosa transcutânea na nocicepção e no edema induzidos pela administração de serotonina intradérmica**. 107 f, 2010. Dissertação de Mestrado, Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), 2010.

SANTOS, S. O.; SILVA, A.; SANTOS, J. D. G.; SOUZA, A. P. S.; KHOURI, A. G. Uso indiscriminado de analgésicos por discentes de uma instituição de ensino superior: um risco imperceptível. **Revista Referências em Saúde da Faculdade Estácio de Sá de Goiás-RRS-FESGO**, v. 2, n. 3, p; 22-29, 2019.

SCHNECKENER, S.; GRIMBS, S.; HEY, J.; MENZ, S.; OSMERS, M.;SCHAPER, S.; HILLISCH, A.; GÖLLER, A. H. Prediction of oral bioavailability in rats: Transferring Insights from in vitro correlations to (deep)machine learning models using in silico model outputs and chemical structure parameters. **J. Chem. Inf. Model.**2019,59, 4893–4905

SEELIG, A. P-glycoprotein: one mechanism, many tasks and the consequences for pharmacotherapy of cancers. **Frontiers in oncology**, v. 10, p. 576559, 2020.

SESSA, C.; ZUCCHETTI, M.; DAVOLI, E.; CALIFANO, R.; CAVALLI, F.; FRUSTACI, S.; GUMBRELL, L.; SULKES, A.; WINOGRAD, B.; D'INCALCI, M. Phase I and clinical pharmacological evaluation of aphidicolin glycinate, **Journal of the National Cancer Institute**, v. 83, n. 16, p. 1160–1164, 1991.

SHIMADA, K., FUJIKAWA, K., YAHARA, K., NAKAMURA, T. Antioxidative properties of xanthan on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 40, n. 6, p. 945-948, 1992.

SHIN, M.; JANG, D.; NAM, H.; LEE, K. H.; LEE, D. Predicting the absorption potential of chemical compounds through a deep learning approach. **IEEE/ACM transactions on computational biology and bioinformatics**, v. 15, n. 2, p. 432-440, 2016

SILVA, D. M.; RIET-CORREA, F.; MEDEIROS, R. M. T.; OLIVEIRA, O. F. Plantas tóxicas para ruminantes e eqüídeos no Seridó Ocidental e Oriental do Rio Grande do Norte. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, [s. l.], v. 24, n. 4, p. 223-236, 2006.

SILVA, F. R. L. **Contribuição ao estudo de *Tephrosia toxicaria* Pers. (Fabaceae) e *Stemodia maritima* Linn. (Scrophulariaceae)**. 2013. 107 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pós-graduação em Química da Universidade Federal do Ceará, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2013.

SILVA, F. R. L. *Tephrosia toxicaria* Pers. e *Stemodia maritima* Linn.: Estudo químico e atividades biológicas. 2017. 207 f. Tese (Doutorado em Química) - **Universidade Federal do Ceará**, Fortaleza, 2017.

SILVA, F. R. L.; RODRIGUES, F. E. A.; GOMES, A. R. S.; ARRIAGA, A. M. C. A.; MAFEZOLI, J.; LEMOS, T. L.G.; ALMEIDA, M. C. S. A.; SANTIAGO, G. M. P.; BRAZFILHO, R.; COSTA, J. G. M.; RODRIGUES, F. F. G.; COUTINHO, H. D. M. Phytochemical study, antioxidante and antibacterial activities of *Stemodia marítima*. **Química Nova**, [s. l.], v. 37, n. 9, p. 1474-1478, 2014.

SILVA, M.; ERRANTE, P. R. Câncer colorretal: fatores de risco, diagnóstico e tratamento. **UNILUS Ensino e Pesquisa**, v. 13, n. 33, p. 133-140, 2017.

SILVA, W. M. B.; ASSUNÇÃO, J. C. C.; ARAÚJO, R. M.; SILVEIRA, E. R.; PESSOA, O. D. L. New volatile constituents from leaves of *Stemodia trifoliata* (Link.) Reichb. (Schrophulariaceae). **Journal of Brazilian Chemical Society**, v. 20, n. 1, p. 37-41, 2009.

SILVA, W. M. B.; ASSUNÇÃO, J. C. C.; ARAÚJO, R. M.; SILVEIRA, E. R.; PESSOA, O. D. L. New volatile constituents from elaves of *Stemodia trifoliata* (Link) Reichb. (Schrophulareaceae). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 20, n. 1, p. 37-41, 2009.

SIMEON, S.; MONTANARI, D.; GLEESON, M. P. Investigation of factors affecting the performance of in silico volume distribution QSAR models for human, rat, mouse, dog & monkey. **Molecular informatics**, v. 38, n. 10, p. 1900059, 2019

SIMÕES, C. M. O. Farmacognosia: do produto natural ao medicamento. **Porto Alegre: Artmed**, 2017.

SINGH, H.; BHARADVAJA, N. Treasuring the computational approach in medicinal plant research. **Progress in Biophysics and Molecular Biology**, v. 164, p. 19-32, 2021.

SOARES, J. C.; ROSALEN, P. L.; LAZARINI, J. G.; MASSARIOLI, A. P.; DA SILVA, C. F.; NANI, B. D.; DE ALENCAR, S. M. Comprehensive characterization of bioactive phenols from new Brazilian superfruits by LC-ESI/TOF-MS, and their ROS and RNS scavenging effects and anti-inflammatory activity. **Food Chemistry**, v. 281, p. 178–188, 2019.

SOUSA, R. S. **Investigação dos efeitos neurofarmacológicos de *Stemodia maritima* (Linn): alterações comportamentais e avaliação do estresse oxidativo**. 2017. 81f. Dissertação (Mestrado) – Pós-graduação em Biotecnologia da Universidade Federal, Sobral, 2017.

SOUSA, R. S.; SILVA, J. A. G.; BORBA, E. F. O.; SOUZA, M. G. O.; SILVA, S. J. L.; SILVA, T. G. Phytochemical analysis and gastroprotective effect of the hexanic extract of *Stemodia maritima* l. **Journal of Biology & Pharmacy and Agricultural Management**, [s. l.], v. 17, n. 2 p. 456-474, 2021.

STEFANI, C.; MIRICESCU, D.; STANESCU-SPINU, I. I.; NICA, R. I.; GREABU, M.; TOTAN, A. R.; JINGA, M. Growth factors, PI3K/AKT/mTOR and MAPK signaling pathways in colorectal cancer pathogenesis: where are we now?. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 19, p. 10260, 2021

STRING - Known and Predicted Protein-Protein Interactions. Disponível em: <https://string->

db.org/cgi/input?sessionId=bXgyFXIUIQaL&input_page_active_form=single_term. Acesso em: 31 de janeiro de 2024

SWEENEY, A. P.; WYLLIE, S. G.; SHALLIKER, R. A.; MARKHAM, J. L. Xantine oxidase inhibitory activity of selected Australian native plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 75, p. 273-277, 2001.

SZKLARCZYK, D.; FRANCESCHINI, A.; WYDER, S.; FORSLUND, K.; HELLER, D.; HUERTA-CEPAS, J.; SIMONOVIC, M.; ROTH, A.; SANTOS, A.; TSAFOU, K. P.; KUHN, M.; BORK, P.; JENSEN, L. J.; VON MERING, C. Protein-protein Interaction Networks, Integrated over the Tree of Life. **Nucleic Acids Research**, v. 43, D447–D452, 2015

TABIBZADEH, A.; TAMESHKEL, F.; MORADI, Y.; SOLTANI, S.; MORADI-LAKEH, M.; ASHRAFI, G.; MOTAMED, N.; ZAMANI, F.; MOTEVALIAN, S.; PANAH, M.; ESGHAELI, M.; AJDARKOSH, H.; MOUSAVI-JARRAHI, A.; NIYA, M. Signal transduction pathway mutations in gastrointestinal (GI) cancers: a systematic review and meta-analysis. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 18713, 2020.

TAVOADA, C. F. T. **Síntesis y caracterización de nuevos ligandos tipo N, O, S dados y sus complejos metálicos derivados de las aroiltiureas y la sacarina**. Tesis de maestría, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Química e Ingeniería Química, Unidad de Posgrado.

TCHEREMENSKAIA, O.; BATTISTELLI, C. L.; GIULIANI, A.; BENIGNI, R.; BOSSA, C. In silico approaches for prediction of genotoxic and carcinogenic potential of cosmetic ingredients. **Computational Toxicology**, v. 11, p. 91-100, 2019.

TECHIO, P. X.; BELO, M. A. A. Estrutura química e interação molecular farmacodinâmica entre salicilatos e oxicanos. **ENCICLOPÉDIA BIOSFERA, Centro Científico Conhecer - Goiânia**, v. 8, n. 14; p. 1537-1561, 2012.

TEIXEIRA, A. H.; FREIRE, J. M. O.; SOUZA, L. H. T.; PARENTE, A. T.; SOUZA, N. A.; ARRIAGA, A. M. C.; SILVA, F. R. L.; MELO, I. M.; SILVA, I. I. C.; PEREIRA, K. M. A.; GOES, P.; COSTA, J. J. N. C.; CRISTINO-FILHO, G.; PINTO, V. P. T.; CHAVES, H. V.; BEZERRA, M. M. *Stemodia maritima* L. extract decreases inflammation, oxidative stress, and alveolar bone loss in an experimental periodontitis rat model. **Frontiers in Physiology**, [s. l.], v. 8, n. 4, p. 1-10, 2017.

TEMP, F. R. Efeitos de inibidores da enzima COX-2 sobre o desenvolvimento de crises convulsivas em camundongos. 207 f, Tese de Doutorado – Programa de pós graduação em Farmacologia, **Universidade Federal de Santa Maria (UFSM)**, 2018.

TUBA, D.; SERDAR, O.; BETUL, A. Y. In vitro anticancer and antiproliferative activity of crocin on HCT-116 cells. **World Journal of Advanced Research and Reviews**, v. 15, n. 3, p. 290–297 2022.

VITIELLO, P.; CARDONE, C.; MARTINI, G.; CIARDIELLO, D.; BELLI, V.; MATRONE, N.; BARRA, G.; NAPOLITANO, S.; CORTE, C.; TURANO, M.; FURIA, M.; TROIANI, T.; MORGILLO, F.; VITA, F.; CIARDIELLO, F.; MARTINELLI, E. Receptor tyrosine kinase-dependent PI3K activation is an escape mechanism to vertical suppression of the

EGFR/RAS/MAPK pathway in KRAS-mutated human colorectal cancer cell lines. **Journal of Experimental & Clinical Cancer Research**, v. 38, p. 1-12, 2019.

WANG, Y.; LIU, T.; XIE, J.; CHENG, M.; SUN, L.; ZHANG, S.; ZHANG, N. A review on application of molecular simulation technology in food molecules interaction. **Current Research in Food Science**, v. 5, s.l., p. 1873–1881, 2022.

WENIGER, B.; HAAG-BERRURIER, M.; ANTON, R. Plants of Haiti used as antifertility agents. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 6, n. 1, p. 67-84, 1982.

WIGGERS, H. J. Integração de métodos in silico e in vitro para o planejamento de inibidores da enzima cruzafina. Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química, UFSCar, 2011.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Colorectal Cancer. WhoInt, 2023. Disponível em: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/colorectal-cancer?gclid=CjwKCAiA8NKtBhBtEiwAq5aX2JdwliGCnZWkzdEkrY12riMsYoQ9oAwrk5I11_S_tD6MujLJpvUWtRoCtB0QAvD_BwE. Acessado em 27 de janeiro de 2024.

WRIGHT, G. E.; HUBSCHER, U.; KHAN, N. N.; FOCHER, F.; VERRI, A. Inhibitor analysis of calf thymus DNA polymerases alpha, delta and epsilon, **FEBS Letters**, v. 341 n. 1, p. 128–130, 1994.

WU, Y. C.; SONNINEN, T. M.; PELTONEN, S.; KOISTINAHO, J.; LEHTONEN, Š. Blood–brain barrier and neurodegenerative diseases—modeling with iPSC-derived brain cells. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 14, p. 7710, 2021.

XU, F., NA, L., LI, Y., & CHEN, L. RETRACTED ARTICLE: Roles of the PI3K/AKT/mTOR signalling pathways in neurodegenerative diseases and tumours. **Cell & bioscience**, v. 10, p. 1-12, 2020.

YANG, Z.; HE, J. H.; LU, A. P.; HOU, T. J.; CAO, D. S. Application of Negative Design To Design a More Desirable Virtual Screening Library. **Journal Of Medicinal Chemistry**, v. 63, n. 9, p. 4411-4429, 2020. American Chemical Society (ACS).

YOSHIMURA, M.; FURUE, H. Mechanisms for the anti-nociceptive actions of the descending noradrenergic and serotonergic systems in the spinal cord. **Journal of Pharmacological Sciences**, v. 2, n. 101, p. 107-117, 2006.

ZDRALI, E.; BAER, M. D.; OKUR, H. I.; MUNDY, C. J.; ROKE, S. The diverse nature of ion speciation at the nanoscale hydrophobic/water interface. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 123, n. 10, p. 2414-2423, 2019.

ZHANG, J.; LI, F.; SHEN, S.; YANG, Z.; JI, X.; WANG, X.; ZHANG, Y. More simple, efficient and accurate food research promoted by intermolecular interaction approaches: A review. **Food Chemistry**, v. 416, Article 135726, 2023.

ZIMMERMANN, L. A. Síntese de Compostos Potencialmente Antitripanossomatídeos e Avaliação da Relação Estrutura-Atividade com Base em Ensaios In Vitro, acoplados a estudos

In Silico. 247 f. Tese de Doutorado em Farmácia - **Universidade Federal de Santa Catarina**, Florianópolis, 2018.