



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAPÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

NORBERTO SOUZA COSTA

**IDENTIFICAÇÃO E SELEÇÃO DE MOLÉCULAS ORGÂNICAS COM
POTENCIAL AÇÃO INIBITÓRIA ANTICÂNCER DE PRÓSTATA:
UMA ABORDAGEM DE BIOQUIMIOINFORMÁTICA.**

Macapá-AP

2024

NORBERTO SOUZA COSTA

**IDENTIFICAÇÃO E SELEÇÃO DE MOLÉCULAS ORGÂNICAS COM
POTENCIAL AÇÃO INIBITÓRIA ANTICÂNCER DE PRÓSTATA:
UMA ABORDAGEM DE BIOQUIMIOINFORMÁTICA.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Amapá, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Área de Concentração: Tecnologias Aplicadas a Fármacos.

Orientador: Prof. Dr. Cleydson Breno Rodrigues dos Santos.

Coorientador: Prof. Dr. Cleison Carvalho Lobato.

Macapá-AP

2024

FICHA CATALOGRÁFICA

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca Central/UNIFAP-Macapá-AP
Elaborado por Cristina Fernandes – CRB-2 / 1569

C837i Costa, Norberto Souza.

Identificação e seleção de moléculas orgânicas com potencial ação inibitória anticâncer de próstata: uma abordagem de bioquimioinformática / Norberto Souza Costa. - Macapá, 2024.
1 recurso eletrônico. 88 folhas.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Amapá. Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Macapá, 2024.

Orientador: Prof. Dr. Cleydson Breno Rodrigues dos Santos.

Coorientador: Prof. Dr. Cleison Carvalho Lobato.

Modo de acesso: World Wide Web.

Formato de arquivo: Portable Document Format (PDF).

1. Câncer de próstata. 2. Antiandrógeno. 3. Triagem virtual. 4. Dinâmica molecular. I. Santos, Cleydson Breno Rodrigues dos, orientador. II. Universidade Federal do Amapá. III. Título.

CDD 23. ed. – 616.994

COSTA, Norberto Souza. Identificação e seleção de moléculas orgânicas com potencial ação inibitória anticâncer de próstata: uma abordagem de bioquimioinformática. Orientador: SANTOS, Cleydson Breno Rodrigues dos. 2024. 88 f. Dissertação (Mestrado) - Coordenação do Curso de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal do Amapá. Macapá, 2024.

NORBERTO SOUZA COSTA

**IDENTIFICAÇÃO E SELEÇÃO DE MOLÉCULAS ORGÂNICAS COM POTENCIAL
AÇÃO INIBITÓRIA ANTICÂNCER DE PRÓSTATA: UMA ABORDAGEM DE
BIOQUIMIOINFORMÁTICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Amapá, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Área de Concentração: Tecnologias Aplicadas a Fármacos.

Data de Aprovação: 06 / dezembro / 2024

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Cleydson Breno Rodrigues dos Santos
Orientador/Presidente — Universidade Federal do Amapá



Prof. Dr. Rodrigo Alves Soares Cruz - **UNIFAP**



Prof.ª. Dra. Elenilze Figueiredo Batista Ferreira – **UEAP**

DEDICATÓRIA

*Aos meus familiares por todo apoio
nessa etapa da minha carreira
científica.*

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer e dedicar esta dissertação às seguintes pessoas:

A Deus pelo privilégio de ter a oportunidade de estar me desenvolvendo profissionalmente e pessoalmente.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Cleydson Breno Rodrigues dos Santos, por me mostrar os caminhos da pesquisa científica de ponta, sempre com palavras de incentivo e confiança.

Aos colegas (Raí Campos, Ryan S. Ramos, Igor V. Santos, Josivan S. Costa, Lúcio R. Lima e Luciana B. Silva) do Laboratório de Modelagem e Química Computacional (LMQC) da UNIFAP que foram fundamentais no desenvolvimento desta pesquisa, por meio de orientações que abriram e ampliaram os meus conhecimentos na área de bioinformática aplicada. Todo o meu respeito e agradecimento.

À minha família e amigos pelo apoio incondicional que me deram, especialmente à minha esposa, Neima Leite Dias, pelas revisões gramaticais incansáveis ao longo da elaboração deste trabalho. Às minhas filhas, Nathália e Nicolly, que estão sempre me renovando com a frase “Papai, eu te amo”.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da UNIFAP (PPGCF) pela oportunidade de aprender e fazer ciência de qualidade na Amazônia.

No Egito, as bibliotecas eram chamadas "Tesouro dos remédios da alma". De fato é nelas que se cura a ignorância, a mais perigosa das enfermidades e a origem de todas as outras.

(Jacques Bossuet)

RESUMO

O câncer de próstata, uma das neoplasias mais prevalentes em homens, apresenta incidência crescente devido ao envelhecimento populacional. Como sua progressão está diretamente ligada à sinalização androgênica, o desenvolvimento de novos agentes terapêuticos que atuem nessa via é de grande relevância clínica. Este estudo empregou abordagens computacionais avançadas para identificar compostos com potencial atividade antiandrogênica, realizando uma triagem virtual em larga escala nos bancos de dados Princeton (1,2 milhão de compostos) e Zinc Drug (175 milhões de compostos). A estratégia metodológica combinou técnicas de superposição molecular (ROCS), análise de potencial eletrostático (EON), avaliação de propriedades farmacocinéticas e toxicológicas (ADME/Tox), docking molecular e simulações de dinâmica molecular. Esse pipeline computacional permitiu identificar quatro compostos altamente promissores (ZINC34176694, ZINC03876158, ZINC04097308 e ZINC03977981) que demonstraram: Perfil farmacocinético favorável, boa previsão de segurança toxicológica, forte afinidade de ligação com o receptor androgênico, estabilidade conformacional em simulações de dinâmica molecular. Esses resultados sugerem que os compostos identificados representam candidatos potenciais para o desenvolvimento de novas terapias contra o câncer de próstata, com mecanismo de ação baseado na inibição da sinalização androgênica. Os achados justificam investigações experimentais posteriores para validação da eficácia biológica dessas moléculas.

Palavras Chaves: câncer de próstata; antiandrógeno; docking molecular, dinâmica molecular.

ABSTRACT

Prostate cancer, one of the most prevalent malignancies in men, shows increasing incidence due to population aging. Since its progression is directly linked to androgen signaling, the development of new therapeutic agents targeting this pathway is of great clinical relevance. This study employed advanced computational approaches to identify compounds with potential anti-androgenic activity, conducting large-scale virtual screening of the Princeton (1.2 million compounds) and Zinc Drug (175 million compounds) databases. The methodological strategy combined molecular superposition techniques (ROCS), electrostatic potential analysis (EON), pharmacokinetic and toxicological property assessment (ADME/Tox), molecular docking, and molecular dynamics simulations. This computational pipeline identified four highly promising compounds (ZINC34176694, ZINC03876158, ZINC04097308, and ZINC03977981) that demonstrated: Favorable pharmacokinetic profile, good toxicological safety prediction, strong binding affinity with the androgen receptor, conformational stability in molecular dynamics simulations. These results suggest that the identified compounds represent potential candidates for the development of new prostate cancer therapies, with a mechanism of action based on androgen signaling inhibition. The findings warrant further experimental investigations to validate the biological efficacy of these molecules.

Keywords: prostate cancer; antiandrogen; molecular docking, molecular dynamics.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	Processo de desenvolvimento do câncer	19
Figura 2 –	Organização genética do gene do receptor de andrógenos (AR) no cromossomo X e principais domínios funcionais da proteína codificada	23
Figura 3 –	Hormônios esteroides androgênicos: Testosterona e Diidrotestosterona	24
Figura 4 –	Estruturas moleculares de antiandrógenos, incluindo antiandrógenos esteroides acetato de ciproterona, acetato de medroxiprogesterona e acetato de megestrol e antiandrógenos não esteroides	26
Figura 5 –	Fórmula Estrutural 2D e 3D do Acetato de Ciproterona	27
Figura 6 –	Fórmula Estrutural 2D da 15-beta-hidroxiproterona	28
Figura 7 –	Algumas das aplicações das ferramentas da Bioinformática .	30
Figura 8 –	Esquema geral do processo de Triagem Virtual	33
Figura 9 –	Fluxograma geral resumindo as etapas metodológicas	36
Figura 10 –	Gráfico ADMET da base de dados Princeton relacionando a área de superfície polar (PSA) aos valores ALogP98 calculados	42
Figura 11 –	Gráfico ADMET da base de dados Zinc database relacionando a área de superfície polar (PSA) aos valores ALogP98 calculados	43
Figura 12 –	Validação do protocolo do docking molecular	51
Figura 13 –	Moléculas selecionadas para a simulação de docking molecular	51
Figura 14 –	Moléculas acopladas no sítio ativo do AR	
Figura 15 –	Interação da molécula pivô com o AR, diagrama de interações 2D	59
Figura 16 –	Representação de interações em 2D obtido por meio de docking molecular para ZINC34176694	60
Figura 17 –	Representação de interações em 2D obtido por meio de docking molecular para ZINC03876158	60

Figura 18 – Representação de interações em 2D obtido por meio de docking molecular para ZINC04097308	61
Figura 19 – Representação de interações em 2D obtido por meio de docking molecular para ZINC03977981	62
Figura 20 – Moléculas selecionadas no docking molecular.....	62
Figura 21 – Gráfico de Bioavailability Radar	65
Figura 22 – Radar de biodisponibilidade das moléculas hits	66
Figura 23 – Análise da estabilidade conformacional dos sistemas ao longo de 100ns de simulação de dinâmica molecular	73

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para o triênio 2023-2025 por sexo, exceto pele não melanoma	20
Tabela 2 –	Parâmetros farmacocinéticos computacionais (ADME) da base de dados Princeton das estruturas selecionadas	44
Tabela 3 –	Parâmetros farmacocinéticos computacionais (ADME) da base de dados Zinc database das estruturas selecionadas	45
Tabela 4 –	Predições das propriedades toxicológicas e DL ₅₀	
Tabela 5 –	Afinidade de ligação e interações das moléculas promissoras com o AR	54
Tabela 6 –	Previsão de Acessibilidade Sintética através da ferramenta web gratuita AMBIT e SwissADME	64
Tabela 7 –	Parâmetros farmacocinéticos importantes para uma boa disponibilidade oral dos compostos	65
Tabela 8 –	Pontuação de Bioatividade dos compostos de acordo com o software Molinspiration Cheminformatics	67
Tabela 9 –	Predição de Atividade Biológica	69
Tabela 10 –	Previsão de lipofilicidade através do servidor online SwissADME	71
Tabela 11 –	Previsão de solubilidade em água (LogS) através do servidor online SwissADME	72
Tabela 12 –	Valores de energia de afinidade (valores em kcal/mol). ΔE_{vdW} , contribuições das interações de van der Waals; ΔE_{ele} , energia eletrostática; ΔG_{GB} , energia de solvatação polar; ΔG_{NP} , energia de solvatação apolar; ΔG_{bind} , afinidade de ligação.....	74

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AR	Andrógeno receptor
ADMET	Absorção, distribuição, metabolismo e toxicidade
ADT	Terapia de privação de andrógeno
CaP	Câncer de próstata
CPA	Acetato de ciproterona
CRPC	Câncer de próstata resistente à castração
DHT	Diidrotestosterona
MD	Docking molecular
DM	Dinâmica molecular
DNA	Ácido desoxirribonucleico
FDA	Food and Drug Administration
HPB	Hiperplasia prostática benigna
INCA	Instituto Nacional do Câncer
LDB	Domínio de ligação ao ligante
LBVS	Ligand-Based Virtual Screening
MM	Modelagem Molecular
NTD	Domínio de transativação N - Terminal
OMS	Organização Mundial da Saúde
PCA3	Antígeno de Câncer de Próstata 3
PBD	Proteína Data Bank
PHI	Índice de Saúde da Próstata
PR	Prostatectomia radical
PSA	Antígeno Prostático Específico
RMSD	Root Mean Square Deviation
SBVS	Structure-Based Virtual Screening
T	Testosterona
VS	Virtual Screening

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	OBJETIVOS	17
2.1	OBJETIVO GERAL	17
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
3	REFERENCIAL TEÓRICO	18
3.1	CÂNCER	18
3.2	EPIDEMIOLOGIA DO CÂNCER	19
3.3	CÂNCER DE PRÓSTATA	20
3.3.1	AR e o seu papel no desenvolvimento do CaP	22
3.3.2	Tratamento do CaP	24
3.4	TERAPIA DE PRIVAÇÃO DE ANDRÓGENO	25
3.4.1	Antiandrógenos	25
3.4.1.2	Acetato de Ciproterona	27
3.5	BIOQUIMIOINFORMÁTICA NO PLANEJAMENTO DE FÁRMACOS	29
3.5.1	Triagem Virtual	31
3.5.2	Simulação de docking molecular e dinâmica molecular.....	33
4	MATERIAL E MÉTODOS	36
4.1	SELEÇÃO DO COMPOSTO MODELO	36
4.2	PESQUISA POR CONFÔRMEROS EM BANCOS DE DADOS	36
4.3	PESQUISA POR SIMILARIDADE - SOBREPOSIÇÃO RÁPIDA DE ESTRUTURAS QUÍMICAS (ROCS).....	37
4.4	PESQUISA POR SIMILARIDADE - CÁLCULOS DE SIMILARIDADE ELETROSTÁTICA (EON)	37
4.5	PREDIÇÕES <i>IN SILICO</i> DE PROPRIEDADES FARMACOCINÉTICAS	38
4.6	PREDIÇÕES <i>IN SILICO</i> DE PROPRIEDADES TOXICOLÓGICAS E DL ₅₀	38
4.7	DOCKING MOLECULAR	38
4.8	ACESSIBILIDADE SINTÉTICA	39
4.9	PREDIÇÕES <i>IN SILICO</i> DE PROPRIEDADES MOLECULARES	

	E BIOATIVIDADE	39
4.10	PREDIÇÕES <i>IN SILICO</i> DE ATIVIDADE BIOLÓGICA	39
4.11	LIPOFILICIDADE E SOLUBILIDADE EM ÁGUA	39
4.12	DINÂMICA MOLECULAR	40
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	42
5.1	ANÁLISE DAS PROPRIEDADES FARMACOCINÉTICA	42
5.2	ANÁLISE DAS PROPRIEDADES TOXICOLÓGICAS E DL ₅₀	46
5.3	DOCKING MOLECULAR	50
5.4	PREDIÇÕES DE ACESSIBILIDADE SINTÉTICA	62
5.5	PREDIÇÕES <i>IN SILICO</i> DAS PROPRIEDADES MOLECULARES E BIOATIVIDADE	64
5.6	PREDIÇÕES <i>IN SILICO</i> DE ATIVIDADE BIOLÓGICA	68
5.7	LIPOFILICIDADE E SOLUBILIDADE EM ÁGUA	69
5.8	SIMULAÇÕES DE DINÂMICA MOLECULAR	72
5.8.1	Energia livre de ligação MM/GBSA	73
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	76
	REFERÊNCIAS	77

O câncer é uma doença complexa que é caracterizado por um crescimento desordenado e descontrolado de células anormais.

Esse crescimento ocorre devido uma alteração no DNA da célula, ou seja, uma mutação. O surgimento do câncer pode ser causado por uma combinação de fatores genéticos, ambientais e de estilo de vida.

Fatores genéticos incluem a herança de mutações genéticas que aumentam o risco de desenvolvimento de câncer, enquanto fatores ambientais incluem exposição a substâncias cancerígenas, tais como a radiação, tabaco e determinados tipos de vírus. Estilo de vida, incluindo dieta e atividade física, também pode desempenhar um papel importante no desenvolvimento do câncer.

Existem diferentes tipos de cânceres, entretanto, todos tem em comum o crescimento incontrolável das células. A multiplicação dessas células vai promover a invasão de tecidos e órgãos, levando ao surgimento de tumores, que poderão se disseminar por todo o corpo humano.

O câncer já se tornou um enorme problema de saúde pública no mundo, o que ocasiona uma imensa carga emocional e financeira em indivíduos, famílias e sistemas de saúde.

Entre os diversos tipos de cânceres que acometem a humanidade, em particular os homens, destaque-se o câncer de próstata (CaP). Este tipo de neoplasia é o segundo mais comum em homens no Brasil.

O CaP é uma doença onde células anormais se desenvolvem na próstata, uma glândula do sistema reprodutor masculino. A próstata se localiza atrás da base do pênis, na frente do reto e abaixo da bexiga e apresenta um tamanho aproximado de uma noz, que vai variando de acordo com a idade mais avançada. Ela é responsável pela produção do fluído seminal, que é o líquido do sêmen que protege, sustenta e ajuda a transportar os espermatozoides.

As causas exatas do câncer de próstata não são conhecidas, mas existem fatores de risco conhecidos, incluindo idade avançada, histórico familiar de câncer de próstata, raça (é mais comum em homens negros) e dieta rica em gordura animal. Tanto o CaP como os demais tipos, podem se desenvolver de forma lenta, levando anos, até o desenvolvimento de um tumor visível.

O tratamento do CaP varia dependendo da gravidade da doença, mas pode incluir cirurgia, radioterapia, terapia hormonal ou terapia de braquiterapia. A escolha do tratamento depende do estadiamento da doença, da saúde geral do paciente e de outros fatores.

Uma das formas de tratamento do CaP é o uso de bloqueadores de receptores de andrógenos, que tem por objetivo reduzir os níveis dos hormônios masculinos (testosterona e diidrotestoterona) e assim, diminuir o desenvolvimento do tumor, pois são esses hormônios que alimentam as células do CaP. Porém, a resistência aos medicamentos disponíveis no mercado pelas células tumorais é um fato recorrente, o que interfere diretamente na ação do fármaco. Daí, a necessidade de se buscar constantemente novos compostos candidatos a fármacos que sejam eficazes e superem os problemas apresentados pelas opções de tratamento atualmente disponíveis.

E uma ferramenta que cada vez mais vem auxiliando na busca e desenvolvimento de novos candidatos a fármacos é a bioinformática, que utiliza diversas técnicas computacionais modernas, através da busca em grandes bases de dados, fazendo uma triagem virtual a partir de um composto base (comercial), comparando as suas propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas *in silico*.

A triagem virtual de potenciais inibidores para o tratamento do câncer de próstata envolve o uso de modelos computacionais para avaliar a atividade de compostos químicos como possíveis candidatos a fármacos para o tratamento da doença. Esta abordagem é baseada na tecnologia de simulação molecular e permite avaliar rapidamente grandes volumes de dados, o que torna possível identificar moléculas que tenham a capacidade de inibir as enzimas ou proteínas implicadas no desenvolvimento e progressão do câncer de próstata.

A bioinformática é uma ferramenta valiosa para o desenvolvimento de novos medicamentos, pois permite a análise e interpretação de grandes quantidades de dados biológicos de uma forma mais rápida e eficiente, o que pode levar a avanços significativos no tratamento de doenças.

2.1 OBJETIVO GERAL

Identificar inibidores com potencial atividade anticâncer de próstata.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Selecionar a pose cristalográfica do composto pivô – Acetato de Ciproterona;
- b) Realizar busca de compostos bioativos por meio da triagem virtual (Screening Virtual);
- c) Determinar as propriedades farmacocinéticas e toxicológicas dos compostos selecionados;
- d) Executar a simulação de docking molecular para os compostos selecionados no item (c);
- e) Predizer a atividade biológica dos compostos selecionados;
- f) Determinar a lipofilicidade e solubilidade dos compostos selecionados no item (e);
- g) Executar simulação de dinâmica molecular para os compostos líderes;
- h) Selecionar os compostos líderes mais promissores como agentes anticâncer de próstata.

.

3.1 CÂNCER

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), câncer é um termo genérico utilizado para representar um grande grupo de doenças que pode afetar qualquer parte do corpo. Outros termos também são empregados como tumores malignos e neoplasias (WHO, 2020).

O câncer é um processo evolutivo caracterizado pela interação dinâmica de subpopulações celulares, cada uma impulsionada por progressivas alterações genéticas e epigenéticas progressivas (ILLANGO *et al.*, 2020). Ao longo desse processo, as células cancerígenas podem adquirir heterogeneidade fenotípica que aumenta a aptidão, permitindo que elas cresçam de forma mais agressiva, invadam os tecidos vizinhos, evitem o sistema imunológico e os desafios terapêuticos, e metastatizem para locais distantes (GATENBY; BROWN, 2020).

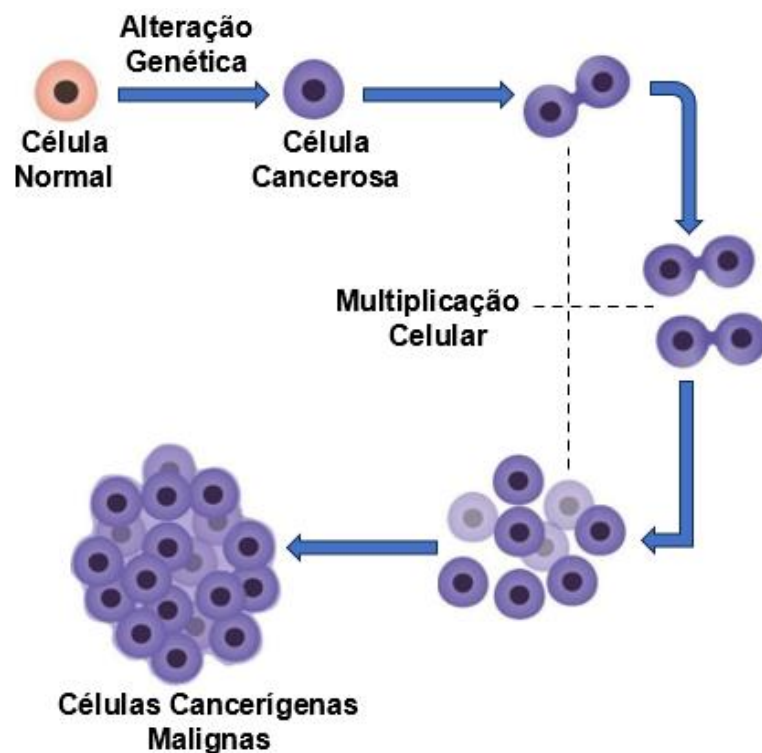
As células nos tecidos cancerígenos se dividem em taxas anormalmente altas e essas células podem se espalhar para outras partes do corpo através dos sistemas sanguíneo e linfático, em um processo chamado metástase (FARES *et al.*, 2020), que é a causa de 90% das mortes relacionadas ao câncer (GUNDEM *et al.*, 2015).

A cada momento, milhões de células estão se dividindo e morrendo em nossos corpos. No entanto, as taxas de morte e divisão celular geralmente estão sob o controle rígido de certas proteínas. O câncer geralmente é causado por mutações, que são erros no DNA. Fatores ambientais, como os produtos químicos do tabaco ou os raios ultravioletas do sol, podem contribuir para essas mutações (FARES *et al.*, 2020; BRAY *et al.*, 2018). O DNA carrega informações sobre como produzir todas as proteínas de uma célula; assim, mutações no DNA podem resultar em proteínas anormais. Se as proteínas que regulam o crescimento celular sofrem mutações, suas versões incorretas podem resultar em crescimento celular anormal e levar ao câncer (KARKI, ORMAN, 2020).

Existem mais de 200 tipos diferentes de câncer, e cada tipo é causado por uma mutação diferente. Além disso, como as células cancerígenas se dividem tão rapidamente, elas são propensas a ainda mais mutações. Portanto, projetar uma única cura para todos os tipos de câncer é difícil. A maioria das terapias comuns

para o câncer tem como alvo células de crescimento/divisão rápidas, porque a divisão celular rápida é uma das principais características das células cancerígenas (KARKI, ORMAN, 2020).

FIGURA 1 - Processo de desenvolvimento do câncer



Fonte: O autor (2024)

3.2 EPIDEMIOLOGIA DO CÂNCER

O câncer é um conjunto de doenças de origem celular, responsáveis por uma das maiores causas de morte no mundo (AMARAL *et al*, 2019), o que o torna um grande problema mundial de saúde pública (SIEGEL *et al*, 2023). Estima-se que, em 2023, haverá aproximadamente 1,9 milhão de novos casos de câncer e cerca de 610.000 mortes por câncer apenas nos Estados Unidos. Em 2015, cerca de 80,2 bilhões de dólares americanos foram gastos em despesas médicas relacionadas ao câncer (SIEGEL *et al*, 2023). Ainda assim, não há uma única cura conhecida para o câncer.

De acordo com o GLOBOCAN 2020, o número de novos casos de câncer diagnosticados em 2020 foi de 19,3 milhões, e quase 10,0 milhões morreram devido ao câncer. Segundo projeção da OMS em colaboração com a sua Agência

Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (IARC), são esperados 27,5 milhões de novos casos de câncer em todo o mundo a cada ano até 2040. Esse dado representa um aumento de 61,7% em relação a 2018 e espera-se que seja maior nos homens (aumento de 67,6%) do que nas mulheres (aumento de 55,3%) (SUNG *et al.*, 2021).

O câncer figura como uma das principais causas de morte e, como consequência, uma das principais barreiras para o aumento da expectativa de vida. Na maioria dos países, corresponde à primeira ou à segunda causa de morte prematura, antes dos 70 anos (SUNG *et al.*, 2021).

Para o Brasil, as estimativas feitas pelo Instituto Nacional do Câncer (INCA), são esperados 704 mil novos casos de câncer no Brasil para cada ano do triênio 2023-2025. A Tabela 1 mostra a estimativa da distribuição dos dez tipos de câncer mais incidentes na população brasileira feita pelo INCA para o triênio 2023-2025 (INCA, 2022).

TABELA 1 – Distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para o triênio 2023-2025 por sexo, exceto pele não melanoma*.

Homens			Mulheres		
Localização Primária	Casos	%	Localização Primária	Casos	%
Próstata	71.730	30,0	Mama feminina	73.610	30,1
Cólon e reto	21.970	9,2	Cólon e reto	23.660	9,7
Traqueia, brônquio e pulmão	18.020	7,5	Colo do útero	17.010	7,0
Estômago	13.340	5,6	Traqueia, brônquio e pulmão	14.540	6,0
Cavidade oral	10.900	4,6	Glândula tireoide	14.160	5,8
Esôfago	8.200	3,4	Estômago	8.140	3,3
Bexiga	7.870	3,3	Corpo do útero	7.840	3,2
Laringe	6.570	2,7	Ovário	7.310	3,0
Linfoma de Hodgkin	6.420	2,7	Pâncreas	5.690	2,3
Fígado	6.390	2,7	Linfoma não Hodgkin	5.620	2,3

*Números arredondados para múltiplos de 10.

Fonte: INCA, 2022 (Adaptada pelo autor)

3.3 CÂNCER DE PRÓSTATA

O câncer de próstata (CaP) é a neoplasia maligna não cutânea mais comum em homens no mundo (URABE *et al.*, 2021). A incidência do CaP ocupa o segundo lugar entre os homens e representa uma das principais causas de morte por câncer, com 288.300 novos casos estimados e 34.700 mortes estimadas somente nos

Estados Unidos em 2023 (GONGOLA, *et al.*, 2023). As taxas de morbidade e mortalidade têm aumentado nos últimos anos (BRAY *et al.*, 2021; SIEGEL, *et al.*, 2023). Como uma doença heterogênea, a ocorrência de CaP pode ser afetada por múltiplos fatores, como genes, contexto celular e fatores ambientais (HAFFNER, *et al.*, 2020; SUMIYOSHY, *et al.*, 2021).

A cada ano milhões de homens são afetados pelo CaP. Em regiões de alta renda, a doença está entre as malignidades sólidas mais comuns (BRAY *et al.*, 2021; SIEGEL, *et al.*, 2023). A trajetória da doença de um indivíduo com CaP pode ser antecipada com base no perfil histopatológico, anatômico e molecular do tumor e no estado de saúde do paciente (REBELLO *et al.*, 2021).

O aumento da expectativa de vida da população mundial, acabou por conduzir um crescente número de casos de doenças associadas a terceira idade. A alta na incidência de enfermidades como o CaP, possuem uma grande relevância no contexto atual e principalmente futuro. Representa hoje, não só um importante problema de saúde pública, mas também, um agravo de especial repercussão socioeconômica a população (DINI; KOFF, 2006; BASAK, *et al.*, 2022).

Apesar do CaP ser um câncer muito comum, a sua etiologia ainda permanece pouco conhecida (STEWART; WILD, 2014), alguns fatores têm mostrado associação com aumento de risco do surgimento da neoplasia, sendo que a idade avançada, etnia e predisposição familiar, são os fatores mais bem documentados na literatura (GOMES *et al.*, 2008; MOTTET *et al.*, 2017; MUCCI *et al.*, 2016).

O desenvolvimento do CaP pode ser assintomático no estágio inicial e muitas vezes tem um curso indolente e pode requerer tratamento mínimo ou mesmo nenhum. No entanto, a queixa mais frequente é a dificuldade para urinar, aumento da frequência e noctúria, todos sintomas que também podem surgir da hipertrofia prostática (RAWLA, 2019). Isto se justificaria pelo fato de que a doença costuma causar sintomas apenas quando se encontra em estágios mais avançados, com acometimento regional importante ou disseminação metastática (GONÇALVES; PADOVANI; POPIM, 2008).

Analisando-se os aspectos epidemiológicos da doença, pode-se notar que o CaP costuma apresentar um bom prognóstico quando comparado a outras neoplasias malignas. Sua mortalidade tem se mantido relativamente baixa ao longo dos anos, sendo que a sobrevida média em 5 anos gira em torno de 58%, no

mundo. Em países desenvolvidos ela é de 64%, caindo, porém, para 41% nos países em desenvolvimento (GOMES *et al.*, 2008).

A determinação da sobrevida em pacientes com CaP depende de vários fatores, entretanto, extensão do local do tumor tem se destacado entre eles. Aqueles tumores que se apresentam confinados a próstata no momento do diagnóstico se associam a uma sobrevida de 100% em 5 anos, comparado com 31.9% daqueles com doença metastática. Portanto um programa acurado de rastreio que consiga identificar a doença em seus estádios iniciais conseguiria diminuir a mortalidade pela doença (HOFFMAN *et al.*, 2014).

3.3.1 Receptor de andrógeno e o seu papel no desenvolvimento do CaP

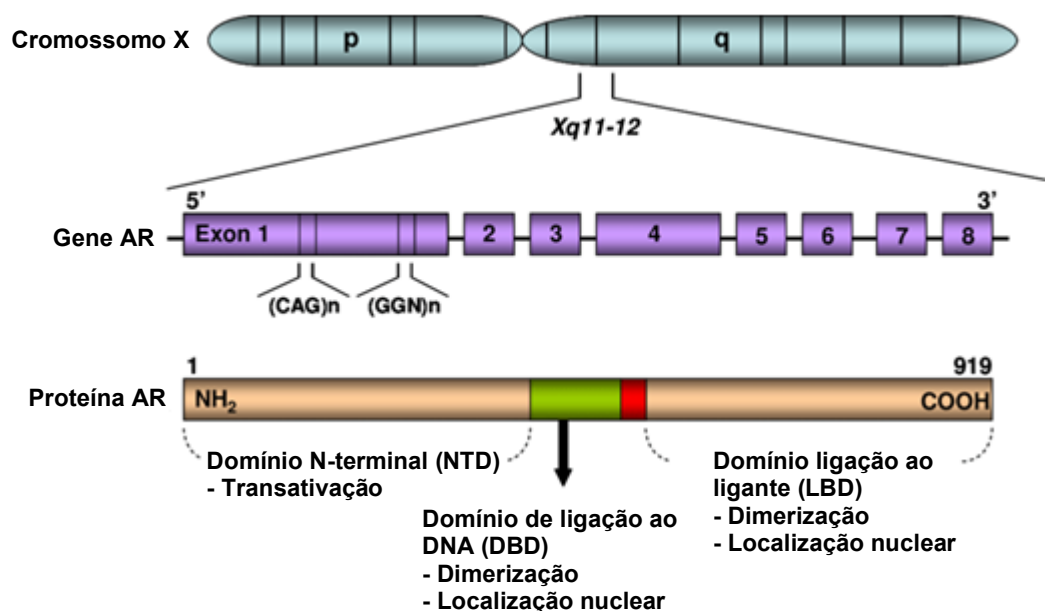
O receptor androgênico humano (AR) é uma proteína de 110 kDa composta por aproximadamente 919 aminoácidos que é codificado pelo gene AR (RA). O RA tem mais de 90 kb de comprimento, é composto por oito éxons e está localizado no cromossomo X em Xq11-12 (Figura 2) (TAPLIN, 2007; TAN, *et al.*, 2015). A proteína AR contém vários domínios funcionais que incluem o domínio de transativação N-terminal (NTD) que é crítico para envolver o complexo de transcrição celular, o domínio de ligação ao DNA (DBD) que direciona a ligação da proteína AR a sequências de DNA específicas, a dobradiça região que codifica o sinal de translocação nuclear e o domínio de ligação ao ligante (LBD) que se liga aos ligantes androgênicos. O NTD é codificado no éxon 1, o DBD é codificado nos éxons 2 e 3, a região de dobradiça é codificada no éxon 4 e o LBD é codificado nos éxons 5-8 (LEUNG; SADAR, 2017; FENG; HE, 2019; KIM, *et al.*, 2021)

O AR desempenha um papel crítico no desenvolvimento normal e na função da próstata (AZEEM, *et al.*, 2017). Ele é um fator de transcrição dependente de ligante que faz parte da família de receptores nucleares (TAN, *et al.*, 2015). Onde o seu papel principal é responder aos hormônios esteroides androgênicos, como a testosterona (T) e a diidrotestosterona (DHT) (Figura 3) (CRONA *et al.*, 2016; KIM *et al.*, 2021). Na ausência de um desses ligantes androgênicos, o AR é sequestrado no citoplasma ligado a proteínas chaperonas (por exemplo, HSP90) onde fica inativo, mas em uma conformação que possui alta afinidade para ligação do ligante (EFTEKHARZADEH *et al.*, 2019). Após a ligação do andrógeno ao LBD do AR, o receptor se dissocia do complexo chaperone e, em seguida, se transloca para o

núcleo, onde se dimeriza com um segundo AR e se liga aos elementos de resposta androgênica em cis-regiões reguladoras para regular a transcrição de genes alvo dependentes de andrógenos (por exemplo, KLK3, que codifica o antígeno específico da próstata [PSA]) (JENTZMIK *et al.*, 2015; FUJITA; NONOMURA, 2019). A regulação transcricional desses genes-alvo, por meio de sinalização AR persistente, contribui para a proliferação e sobrevivência do CaP (JENTZMIK *et al.*, 2015; CRONA *et al.*, 2016).

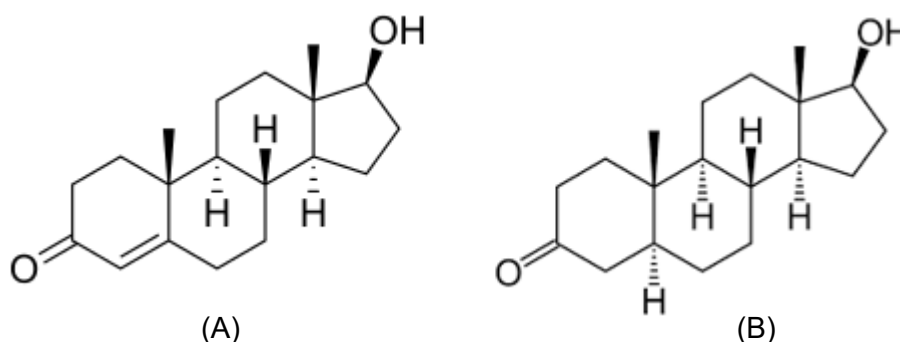
Os andrógenos exercem suas funções ligando-se a um AR. Eles regulam o desenvolvimento e o crescimento da próstata durante a embriogênese e, na adolescência e posteriormente, são responsáveis pela homeostase da glândula adulta (BUSKIN, *et al.*, 2021). Eles podem ativar muitas vias de sinalização que são importantes para a progressão do câncer de próstata resistente à castração (CRPC) (KIM, *et al.*, 2021). Evidências cumulativas sugerem que a sinalização do receptor de androgênio está envolvida na carcinogênese, progressão e recorrência do CaP (CHEN *et al.*, 2022).

FIGURA 2 – Organização genética do gene do receptor de andrógenos (AR) no cromossomo X e principais domínios funcionais da proteína codificada.



Fonte: Adaptado de Rajender e colaboradores (2007).

FIGURA 3 – Hormônios esteroides androgênicos: Testosterona (A) e Diidrotestosterona (B).



Fonte: O autor (2024)

3.3.2 Tratamento do CaP

O tratamento de CaP depende se a doença se apresenta localizada na próstata ou se já se encontra metastática, da presença de comorbidades, da progressão da doença (HEIDENREICH *et al.*, 2011). Quase todos os pacientes sem metástase passam por tratamento radical, como prostatectomia radical (PR) ou radioterapia (RT) (D'AMICO, 1998; BERGLUND, 2006), e esses tratamentos mudaram significativamente recentemente. Em particular, a cirurgia passou por uma grande transformação de cirurgia aberta para cirurgia endoscópica. A PR foi realizada por PR aberta (ORP) até o final da década de 1990, mas agora é obtida por meio de cirurgia minimamente invasiva, como PR laparoscópica (LRP) e PR assistida por robô (RARP) (KESCH *et al.*, 2021; HASHINE *et al.*, 2023).

No caso da RT ela pode ser externa (no caso de pacientes com contraindicação à cirurgia) ou intersticial (no caso de pacientes com bom prognóstico), denominada braquiterapia, em que se realiza o implante de sementes radioativas (SADAR, 2012; CHEN; ZHAO, 2013).

A terapia de privação androgênica e a quimioterapia são as formas de tratamentos geralmente reservadas para a doença avançada ou recorrência bioquímica, como câncer de próstata resistente à castração (CRPC), mas não são consideradas curativas porque as células CaP eventualmente desenvolvem resistência a medicamentos. O último é obtido por meio de vários mecanismos celulares que, em última instância, contornam o modo de ação do fármaco (BAHMAD *et al.*, 2022).

3.4 TERAPIA DE PRIVAÇÃO DE ANDRÓGENO

A terapia hormonal pioneira para o câncer de próstata é a bem conhecida terapia de privação de andrógenos (ADT) originalmente relatada por Huggins e Hodges em 1941 (RAJARAM *et al.*, 2020). A ADT abrange qualquer tratamento que resulte na supressão da atividade androgênica. Isso pode ser alcançado diminuindo a produção de andrógenos testiculares e/ou extragonadais com castração médica ou cirúrgica (isto é, redução do ligante AR) ou usando antiandrógenos para bloquear a sinalização de AR (desativação de AR). A combinação de ambas as abordagens é referida como bloqueio androgênico completo (GROSSMMAN *et al.*, 2013).

A ADT envolve a inibição bioquímica dos hormônios sexuais masculinos, bloqueando a produção de andrógenos nos testículos por meio do eixo hipotálamo-hipófise-gonadal (HPG) com agonistas do hormônio liberador do hormônio luteinizante (LHRH) (por exemplo, leuprolida) ou antagonistas (por exemplo, degarelix) (GROSSMMAN *et al.*, 2013; TORTORELLA *et al.*, 2023).

A terapia sistêmica baseada na privação de andrógenos é a estratégia de tratamento primário padrão em pacientes com câncer de próstata avançado. Apesar da terapia adequada, a doença eventualmente progride para câncer de próstata resistente à castração (CRPC) (MORI *et al.*, 2020).

A terapia de privação androgênica (ADT) é usada com sucesso em pacientes com câncer de próstata avançado, mas há muitas preocupações sobre seus efeitos colaterais sistêmicos, especialmente devido à idade avançada e comorbidades frequentes na maioria dos pacientes. Em pacientes tratados com ADT ocorrem alterações metabólicas envolvendo o controle glicêmico e o metabolismo lipídico, aumento do risco trombótico, aumento do risco de infarto do miocárdio, arritmia grave e morte súbita cardíaca (GHEORGHE *et al.*, 2021).

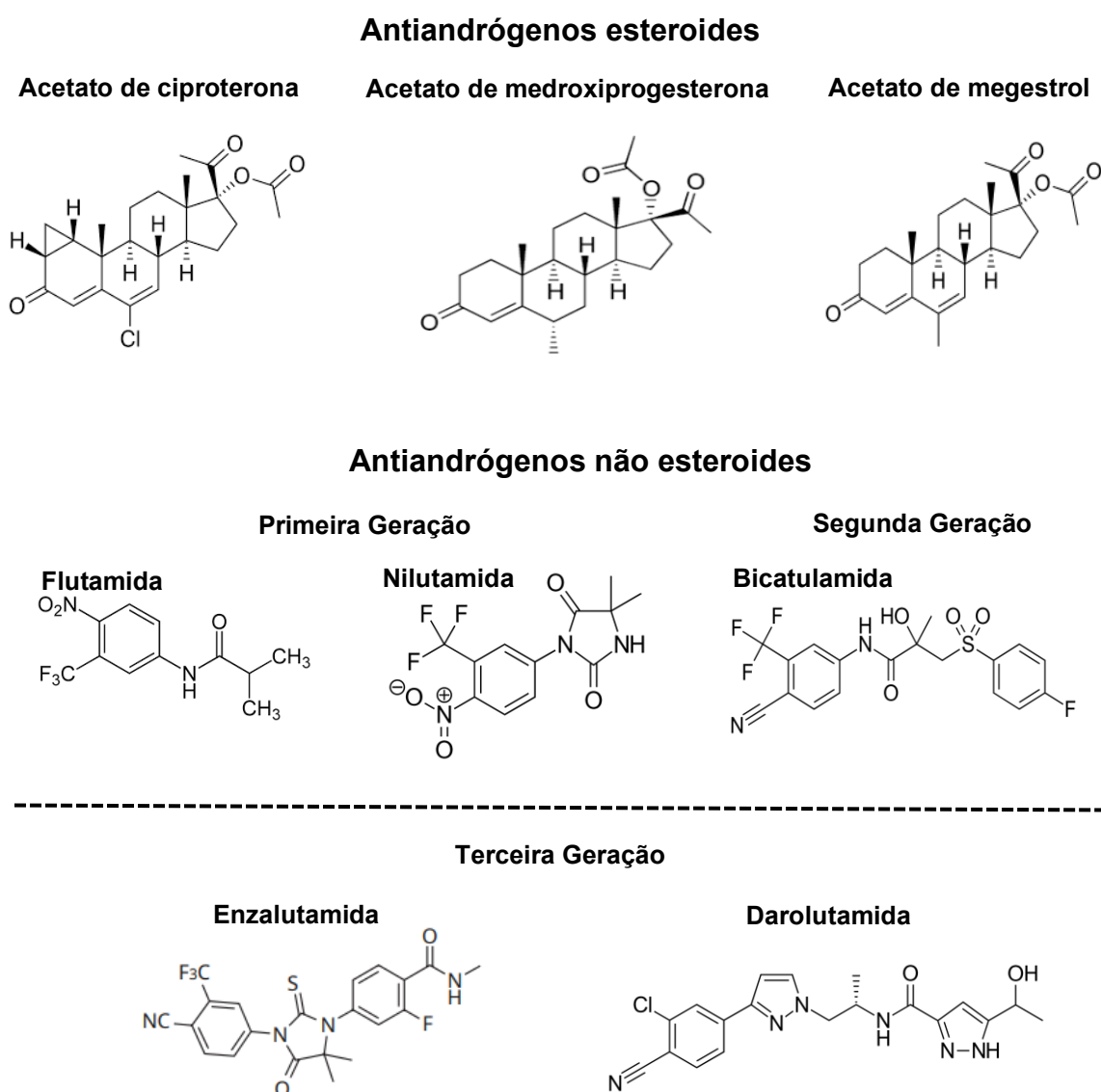
3.4.1 Antiandrógenos

As células da próstata são normalmente dependentes dos andrógenos testosterona e di-hidrotestosterona para estimular a função, crescimento e divisão. Os antiandrógenos competem com esses androgênios pelos locais de ligação nos receptores androgênicos no núcleo da célula prostática, promovendo assim a apoptose (morte celular regulada) e inibindo o crescimento do câncer de próstata

(ANDERSON, 2003; TAN *et al.*, 2014; ANGUS *et al.*, 2020). Assim, uma vez que o paciente é submetido à supressão de androgênio, observa-se uma regressão no câncer de próstata (GRONBERG, 2003).

Os antiandrógenos são divididos estruturalmente em esteroides e não esteroides (Figura 4). Os efeitos biológicos dos agentes esteroides versus não esteroides são diferenciados por diferenças em seus efeitos nos níveis séricos de testosterona e por sua atividade em outros receptores além do receptor de andrógeno (SHAFI; YEN; WEIGEL, 2013).

FIGURA 4 – Estruturas moleculares de antiandrógenos, incluindo antiandrógenos esteroides: acetato de ciproterona, acetato de medroxiprogesterona e acetato de megestrol e antiandrógenos não esteroides.



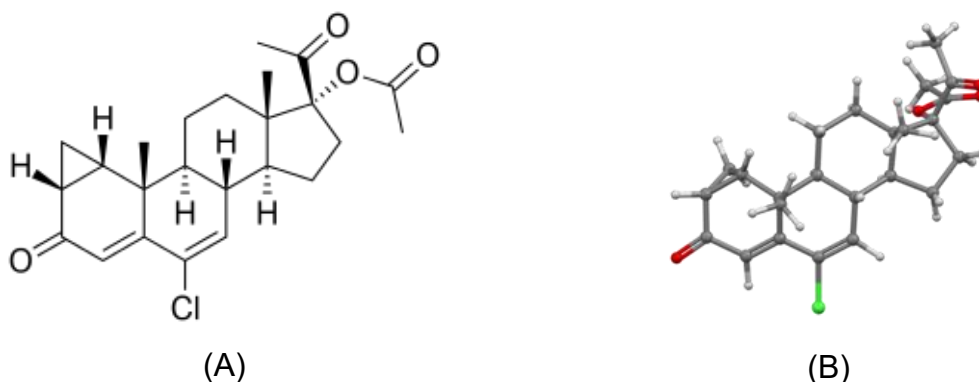
Fonte: Adaptado de CRAWFORD *et al.*, 2018.

3.4.1.2 Acetato de Ciproterona

O Acetato de ciproterona (CPA) (Figura 5), foi o primeiro antiandrógeno que foi usado para o tratamento do câncer de próstata avançado (GUO *et al.*, 2017). Ele é um esteroide sintético, que possui forte atividade antiandrogênica e fraca atividade progestacional. A fraca atividade progestacional do CPA produz uma ação antigonadotrófica no eixo hipotálamo-hipófise-gonadal (HPG) (VOOGT, 1992; CHEN *et al.*, 2017).

O CPA é principalmente um inibidor da interação entre androgênio e receptores de andrógenos. E é devido à sua capacidade de bloquear o receptor de andrógeno (AR) e assim reduzir os níveis séricos de testosterona que ele foi inicialmente utilizado para o tratamento do CaP avançado (KAYIGIL; ATAHAN; METIN, 1997; GUO *et al.*, 2017).

FIGURA 5 – Fórmula Estrutural 2D (A) e 3D (B) do Acetato de Ciproterona (CPA).



Fonte: O autor (2024).

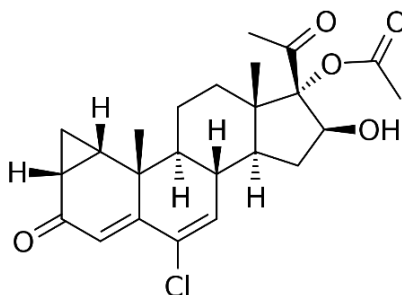
Estudos demonstraram a eficácia da monoterapia com CPA em pacientes com câncer de próstata e, para aqueles nos quais a orquiectomia não é uma opção aceitável, o CPA pode ser uma alternativa útil (KAYIGIL; ATAHAN; METIN, 1997; GILLAT, 2006) e continua a ser uma droga de interesse para oncologistas que tratam câncer de próstata (CHEN *et al.*, 2017). A eficácia de supressão de testosterona do CPA é bem estabelecida em muitos estudos, especialmente quando usado em altas doses (50mg/dia) (BURINKUL *et al.*, 2021). Por ser um antagonista androgênico, o CPA pode ser usado para o tratamento de diversos problemas que são dependentes de androgênios, como crescimento excessivo de pelos, puberdade

precoce, acne, pílula anticoncepcional, processo de transição sexual, além do câncer de próstata (SHAH *et al.*, 2021).

Nas células prostáticas, o CPA inibe a ligação da di-hidrotestosterona aos receptores androgênicos, reduzindo assim os níveis efetivos de testosterona plasmática (IBRAHIM; TEMERK, 2020).

O CPA é lentamente absorvido pelo trato gastrointestinal com pico de concentração plasmática alcançada em três a quatro horas, cuja taxa de ligação às proteínas plasmáticas é de 96% e meia-vida de aproximadamente trinta e oito horas. Ele é metabolizado pelo fígado, e a excreção ocorre pela urina, cerca de 35%. Aproximadamente 90% de uma dose oral foram detectados nas fezes em oito dias. Resíduos de metabólitos sofrem excreção biliar, cujo principal metabólito é o 15 beta-hidroxiproterona (Figura 6) que possui atividade antiandrogênica (BORGES *et al.*, 2009).

FIGURA 6 – Fórmula Estrutural 2D da 15-beta-hidroxiproterona



Fonte: O autor (2024).

As pesquisas demonstram, que o uso do CPA pode induzir complicações cardiovasculares graves em aproximadamente 10% dos pacientes com outros efeitos colaterais, como ginecomastia, perda da libido, disfunção erétil e sintomas do sistema nervoso central, como dor de cabeça e fadiga, que limitam o uso no tratamento de homens com CaP (VOOGT, 1992; PIOTROWSKI; GREENBERG, 2016). A pesquisa objetiva identificar e selecionar potenciais candidatos com menos efeitos colaterais que o CPA.

O CPA é comercializado de forma isolada sob a marca Androcur ou combinado (etinilestradiol) sob as marcas Diane ou Diane-35, entre outros. Atualmente é amplamente utilizado na maioria dos países, representando o primeiro antiandrogênio específico de interesse clínico (ANASTASSAKIS, 2022).

3.5 BIOQUIMIOINFORMÁTICA APLICADA NO PLANEJAMENTO DE FÁRMACOS

O desenvolvimento de medicamentos é um procedimento demorado, caro e extremamente arriscado. Até 90% dos conceitos de medicamentos são descartados devido a desafios como segurança, eficácia e toxicidade, resultando em perdas significativas para o investidor (RANI *et al.*, 2023).

O design tradicional de medicamentos requer uma grande quantidade de tempo de pesquisa e custos de desenvolvimento. Abordagens computacionais em crescimento, como biologia computacional, design de medicamentos auxiliado por computador e inteligência artificial, têm o potencial de acelerar a eficiência da descoberta de medicamentos, reduzindo o tempo e o custo financeiro. Nos últimos anos, técnicas computacionais têm sido amplamente usadas para melhorar a eficácia da descoberta de novos medicamentos, o que resultou na aprovação de novos medicamentos para comercialização (WALTERS; WANG, 2020; ZHANG *et al.*, 2022).

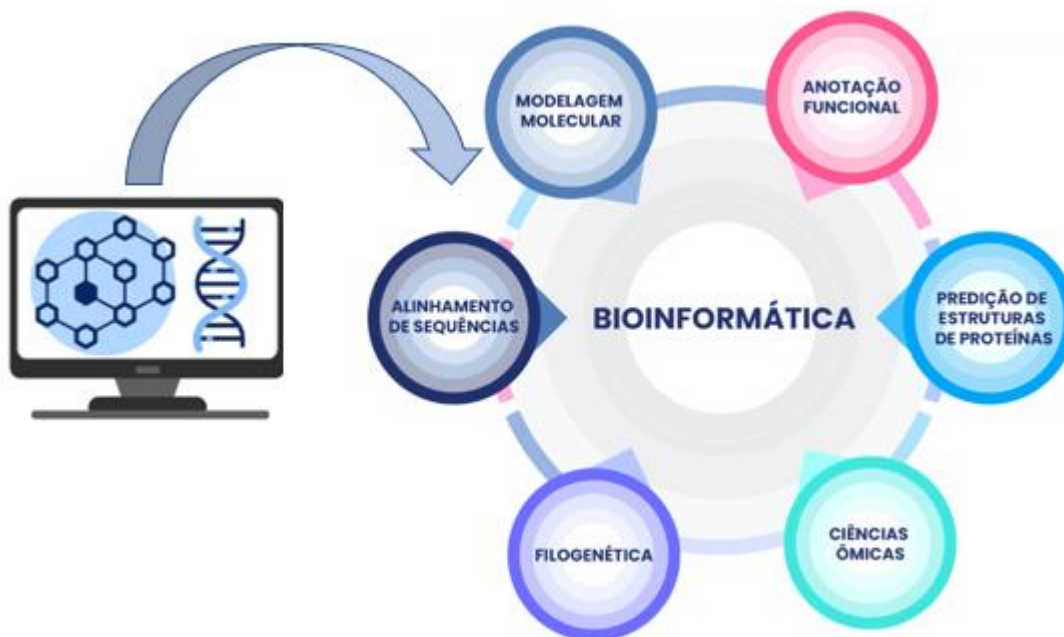
A descoberta moderna de medicamentos é caracterizada pela produção de grandes quantidades de compostos e pela necessidade de examinar essas enormes bibliotecas em curtos períodos de tempo. A exigência de armazenar, gerenciar e analisar esses recursos em rápido crescimento deu origem ao campo conhecido como design de medicamentos auxiliado por computador (CADD). O CADD representa métodos e recursos computacionais que são usados para facilitar o desenho e a descoberta de novas soluções terapêuticas (SONG; LIM; TONG, 2009; ZHANG *et al.*, 2022).

Diante de todo esse contexto tecnológico, a Bioinformática pode ser definida como a pesquisa sobre o conteúdo de informação em sistemas e processos biológicos por meio de computadores, também conhecida como “pesquisa biológica *in silico*”. Uma definição mais descritiva poderia ser chamada de desenvolvimento e uso de algoritmos e métodos de computador como um meio para estudar sistemas biológicos, bioquímicos e farmacológicos (THIBAUT, 2009; DINIZ; CANDURI, 2017).

As aplicações dos conhecimentos de bioinformática – Figura 7 – são indispensáveis para permitir previsões de potenciais moléculas que poderão auxiliar no mecanismo de ação, tratamento e prevenção de doenças infecciosas. O uso de ferramentas e técnicas de bioinformática para analisar dados biológicos gerados a

partir de genômica, transcriptômica, proteômica e ômica estrutural está ganhando um tremendo impulso e fornecendo soluções para problemas biológicos urgentes (CHUKWUDZIE *et al.*, 2021).

FIGURA 7 – Algumas das aplicações das ferramentas da Bioinformática.



Fonte: Adaptado de DINIZ & CANDURI 2017.

Nos campos de descoberta e desenvolvimento de medicamentos, técnicas de aprendizado de máquina têm sido usadas para o desenvolvimento de novos candidatos a fármacos. Os métodos para projetar alvos de drogas e novas descobertas de drogas agora combinam rotineiramente aprendizado de máquina e algoritmos de aprendizado profundo para aumentar a eficiência, eficácia e qualidade dos resultados desenvolvidos. A geração e incorporação de grandes dados (big data), por meio de tecnologias como triagem de alto rendimento e análise computacional de alto rendimento de bancos de dados usados para descoberta de leads e alvos, aumentou a confiabilidade das técnicas incorporadas de aprendizado de máquina e aprendizado profundo (PATEL *et al.*, 2020).

A avaliação da bioinformática pode ajudar a descrever os efeitos adversos e prever a resistência aos medicamentos, bem como a seleção mais rápida do alvo do medicamento e o teste e refinamento do candidato (MISHRA, 2021). Em geral, a bioinformática pode ajudar a revelar os genes-chave de uma grande quantidade de

dados genômicos e, assim, fornecer possíveis proteínas-alvo para triagem e design de drogas (LIN; LI; LIN, 2020).

As ferramentas computacionais são cada vez mais usadas como uma maneira econômica de selecionar, modelar, analisar e otimizar potenciais candidatos a fármacos (SONG; LIM; TONG, 2009; XIA, 2017; ZHANG *et al.*, 2022).

3.5.1 Triagem Virtual

A descoberta de moléculas bioativas é um processo caro e demorado e novas estratégias são continuamente buscadas a fim de otimizar esse processo. A triagem virtual (VS-*Virtual Screening*) é uma das estratégias recentes que tem sido explorada para a identificação de moléculas bioativas candidatas (DA SILVA ROCHA *et al.*, 2019).

A busca virtual consiste em pré-selecionar os compostos com o auxílio do computador a partir de bancos de dados virtuais com muitas moléculas. Desta forma, apenas os compostos pré-selecionados são submetidos aos testes de atividade *in vitro*. Como vantagens desta estratégia têm-se que os compostos estudados não precisam, necessariamente, existir fisicamente e que neste “teste virtual”, *in silico*, não há consumo de material (PICCIRILO; AMARAL, 2018).

Nos últimos 20 anos, a triagem virtual se tornou um componente-chave da descoberta de medicamentos industriais e acadêmicos. Embora a literatura contenha vários exemplos da aplicação de triagem virtual bem-sucedidas, o campo continua a evoluir e a lidar com novos desafios (WALTERS; WANG, 2020).

Estudos de triagem virtual vem sendo explorados para determinar candidatos potenciais para o tratamento de várias doenças, pois utilizam-se de compostos já conhecidos como ponto de partida, dessa forma sendo um método rápido e relativamente preciso (RODRIGUES *et al.*, 2012). Para esse processo é indispensável o uso de diferentes bases de dados que funcionam como uma biblioteca de compostos, os quais passam por busca através de critérios específicos como sobreposição de estruturas química e/ou similaridade eletrostática (LEELANANDA; LINDERT, 2016; LIN; LI; LIN, 2020).

O número de novas técnicas e softwares que podem ser aplicados nesta estratégia tem crescido consideravelmente nos últimos anos, portanto, antes de sua utilização, é necessário entender os fundamentos e as limitações de cada uma para

aproveitá-las ao máximo. Também é necessário avaliar as reais contribuições dessa estratégia para que avanços mais significativos possam ser feitos no futuro (DA SILVA ROCHA *et al.*, 2019).

Os compostos que apresentam características topológicas e físico-químicas desejáveis, e que foram selecionados por todos os filtros da VS são denominados “hits ou leads compounds” (Figura 8) e precisam ser testados experimentalmente buscando confirmar sua atividade biológica demonstrada pelas técnicas computacionais (LEELANANDA; LINDERT, 2016; GIMENO *et al.*, 2019).

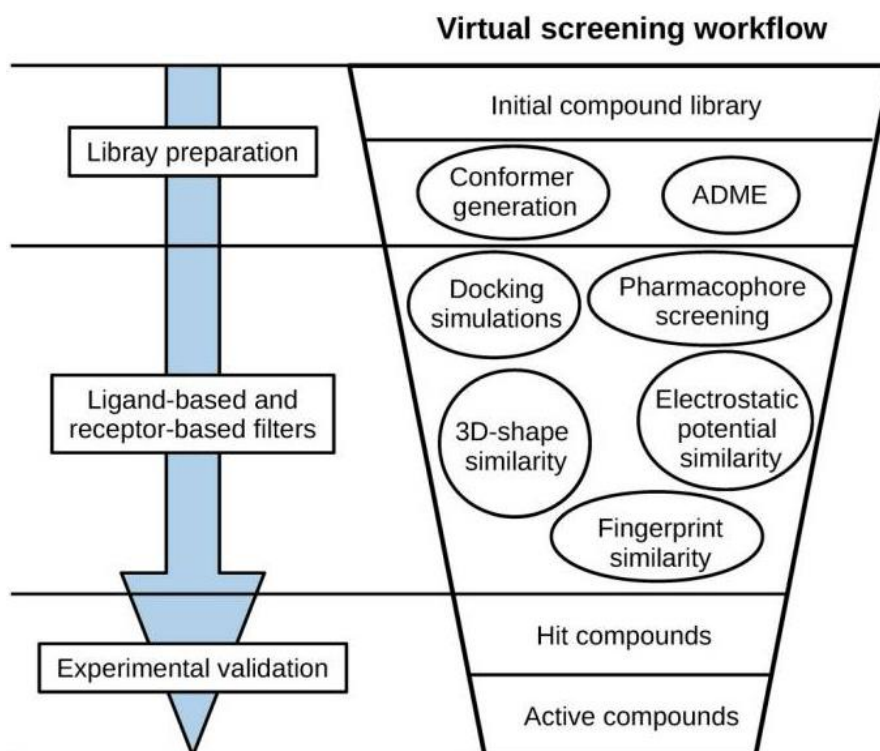
À medida que o número de novos alvos de drogas aumenta exponencialmente, métodos computacionais são cada vez mais usados para acelerar o processo de descoberta de novos fármacos. Isso gerou um aumento do uso de design de medicamentos assistido por computador e técnicas de bioinformática química, como docking de alto rendimento, pesquisa de homologia e pesquisa de farmacoforos em bancos de dados para tecnologia de triagem virtual. A VS é uma parte importante dos métodos de planejamento de medicamentos auxiliados por computador. Pode ser a maneira mais barata de identificar potenciais compostos líderes, e muitos casos de sucesso provaram ser bem-sucedidos usando essa tecnologia (LIN; LI; LIN, 2020).

As estratégias de VS têm como base a estrutura de ligantes bioativos (LBVS - ligand-based virtual screening; em português, triagem virtual baseada na estrutura do ligante) ou, a estrutura do receptor biológico (SBVS - structure-based virtual screening; em português, triagem virtual baseada na estrutura do receptor) (GUIDO; OLIVA; ANDRICOPULO, 2012). Nestes casos, centenas de milhares de moléculas podem ser avaliadas com base tanto na similaridade de ligantes conhecidos (LBVS), quanto no acoplamento a sítios de ligação específicos de proteínas alvo (SBVS). Este último processo, conhecido como docagem molecular (docking molecular ou ancoragem), vindo sendo amplamente empregado para o desenvolvimento de novos fármacos, ocorrendo através de simulação de bioinformática entre potenciais candidatos a fármacos (os ligantes) com os receptores biológicos dos patógenos (enzimas ou proteínas) buscando uma conformação com melhor interação (ALENCAR *et al.*, 2022; DANAIO *et al.*, 2023).

As simulações de docking molecular e dinâmica molecular são amplamente utilizadas em combinação para prever os modos de ligação, afinidades de ligação e

estabilidade de diferentes sistemas proteína-ligante. Com avanços em algoritmos e poder computacional, a simulação de dinâmica molecular é agora uma ferramenta fundamental para montagens biomoleculares investigativas em nível atômico. Esses métodos em associação com o suporte experimental têm sido de grande valor na descoberta e desenvolvimento de medicamentos modernos. Hoje em dia, tornou-se um método cada vez mais significativo no processo de descoberta de medicamentos (NAQVI *et al.*, 2018).

FIGURA 8 – Esquema geral do processo de Triagem Virtual.



Fonte: GIMENO *et al.*, 2019.

3.5.2 Simulação de docking molecular e dinâmica molecular

O Docking molecular (MD) consiste em posicionar um ligante dentro do seu sítio de ligação e, em seguida, estimar sua afinidade pela proteína alvo (PICCIRILLO; AMARAL, 2018). O MD é usado para posicionar a estrutura 3D gerada por computador de pequenos ligantes em uma estrutura receptora em uma variedade de orientações, conformações e posições. Este método é útil na descoberta de medicamentos e na química medicinal, fornecendo informações sobre o reconhecimento molecular. O encaixe tornou-se parte integrante do projeto e

descoberta de medicamentos auxiliados por computador (CADD) (JKHAR *et al.*, 2020).

No design moderno de drogas, o MD é usado rotineiramente para entender a interação droga-receptor. Essa técnica fornece informações úteis sobre interações com receptores de drogas e é frequentemente usada para prever a orientação de ligação de pequenas moléculas candidatas a drogas a seus alvos proteicos, a fim de prever a afinidade e a atividade da molécula (RAVIKUMAR *et al.*, 2022).

O docking molecular tem se consolidado como um dos métodos mais importantes na área de modelagem molecular. Foi reconhecido como uma ferramenta importante no estudo de complexos proteína-ligando, para descrever interações intermoleculares, para prever com precisão as poses de múltiplos ligantes, para descobrir novos compostos bioativos promissores (CABALLERO, 2021). Desde que foi desenvolvido pela primeira vez na década de 1980, os avanços no poder do hardware do computador e o crescente número e facilidade de acesso a pequenas moléculas e estruturas de proteínas contribuíram para o desenvolvimento de métodos aprimorados, tornando o encaixe mais popular em ambientes industriais e acadêmicos. Ao longo dos anos, as modalidades pelas quais o docking é usado para auxiliar as diferentes tarefas de descoberta de medicamentos mudaram. Embora inicialmente desenvolvido e usado como um método autônomo, o docking agora é empregado principalmente em combinação com outras abordagens computacionais em fluxos de trabalho integrados. (STANZIONE; GIANGRECO; COLE 2021).

Vários softwares foram integrados nas últimas décadas, entre os quais alguns exemplos bem conhecidos, como AutoDock, AutoDock Vina, DockThor, GOLD, FlexX e Molegro Virtual Docker (TORRES *et al.*, 2019).

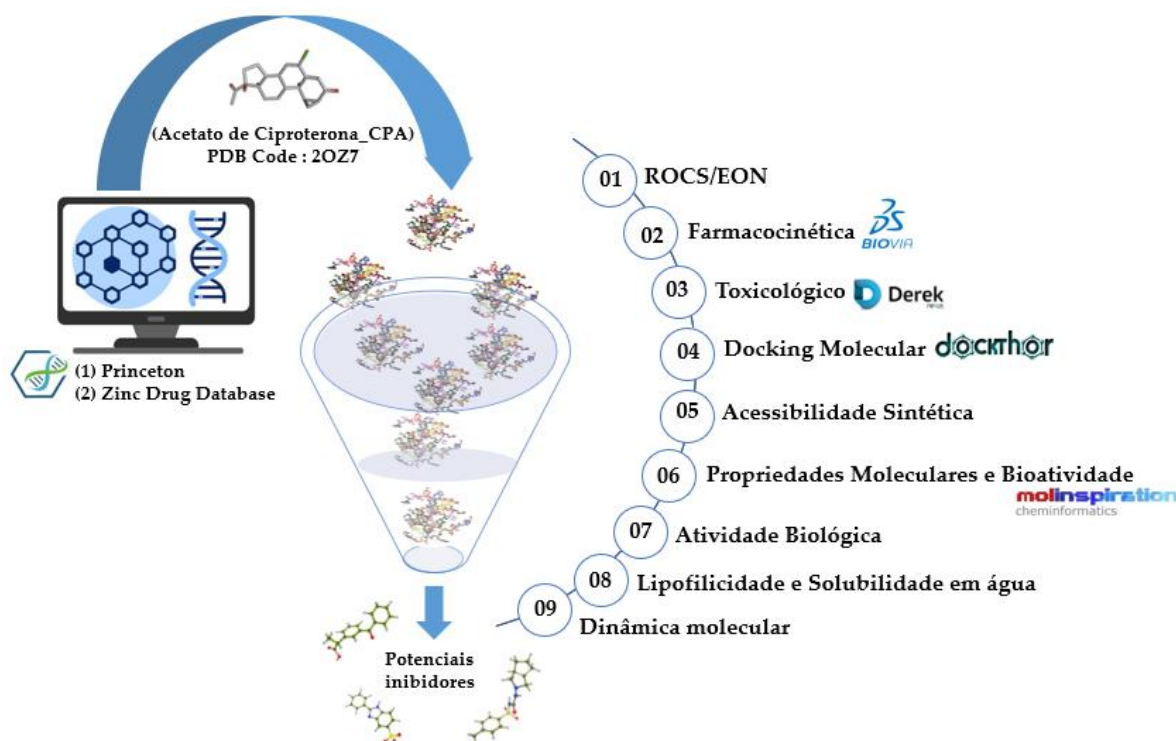
A Dinâmica Molecular representa uma abordagem computacional extremamente eficiente para a análise de macromoléculas biológicas, tendo um impacto considerável em várias fases do desenvolvimento racional de medicamentos (NAMBA; DA SILVA; DA SILVA, 2008). Essa técnica computacional visa reproduzir as diversas conformações que podem ser encontradas em sistemas moleculares, utilizando estruturas obtidas de dados experimentais. Conforme pesquisas recentes, essas simulações têm uma duração aproximada de

microssegundos, permitindo a observação computacional de eventos significativos que podem ser correlacionados com os experimentais (MORTIER et al., 2015).

As simulações de docking molecular em consonância com a técnica de dinâmica molecular (DM) são amplamente utilizadas em combinação para prever os modos de ligação, afinidades de ligação e estabilidade de diferentes sistemas proteína-ligante. Com avanços em algoritmos e poder computacional, esses métodos em associação com o suporte experimental têm sido de grande valor na descoberta e desenvolvimento de medicamentos modernos. Hoje em dia, tornou-se um método cada vez mais significativo no processo de descoberta de medicamentos (NAQVI *et al.*, 2018).

A metodologia empregada foi desenvolvida através de simulações in silico através das técnicas de bioinformática, que se baseou tanto em ligantes quanto na estrutura do alvo molecular, conforme figura 9.

FIGURA 9 – Fluxograma geral resumindo as etapas metodológicas



4.1 SELEÇÃO DO COMPOSTO MODELO

A estrutura do composto modelo foi obtida no banco de dados **Protein Data Bank** (PDB) na pose cristalográfica com o código PDB 2OZ7 (<https://doi.org/10.2210/pdb2oz7/pdb>) (BÖHL et al, 2007).

4.2 PESQUISA POR CONFÔRMEROS EM BANCOS DE DADOS

Nesta fase da pesquisa, foram utilizados dois bancos de dados comerciais para realizar a triagem virtual com base no ligante CPA. Estes incluem (1) Princeton

(~1,2 milhões de compostos) e (2) Zinc Drug Database (~175 milhões de compostos) (IRWIN *et al.*, 2020), utilizando os programas ROCS e EON.

4.3 PESQUISA POR SIMILARIDADE - SOBREPOSIÇÃO RÁPIDA DE ESTRUTURAS QUÍMICAS (ROCS)

O uso do programa de Sobreposição Rápida de Estruturas Químicas — Rapid Overlay of Chemical Structures — (ROCS) da OpenEyes (disponível em <https://www.eyesopen.com/rocs>) permitiu a triagem virtual baseada em ligante por meio da comparação conformacional e do volume do CPA. Essa classificação ocorre com o algoritmo de funções gaussianas localizadas em átomos que propõe a melhor sobreposição entre moléculas em um conjunto de características que pode ser um volume estérico ou a interação molecular chamada Comboscore (CRUZ *et al.*, 2020; LEÃO *et al.*, 2020).

No presente estudo, a molécula do CPA foi utilizada no programa ROCS como modelo de comparação com cada uma das moléculas do banco de dados, a similaridade das moléculas foi executada através da forma “Top2000/base”, o que gerou 4.000 estruturas. Este software gerou os arquivos de entrada para o programa EON (BORGES *et al.*, 2018; SILVA *et al.*, 2019).

4.4 PESQUISA POR SIMILARIDADE — CÁLCULOS DE SIMILARIDADE ELETROSTÁTICA (EON)

O programa de similaridade eletrostática (EON) (<https://www.eyesopen.com.eon>) foi utilizado para calcular a similaridade eletrostática com uma avaliação através do coeficiente de Tanimoto a partir da equação eletrostática de Poisson-Boltzmann, realizando os cálculos de cargas parciais com o campo de força MMFF94 (BORGES *et al.*, 2018). O arranjo eletrostático foi obtido a partir da sobreposição de cargas positivas e negativas ao completar a variação de valores idênticos aos negativos (CRUZ *et al.*, 2020).

Partindo-se das estruturas previamente alinhadas pelo programa ROCS, a similaridade eletrostática das estruturas foi calculada pelo programa EON usando a mesma estrutura de referência (CPA). O EON compara mapas de potencial eletrostático de moléculas pré-alinhadas e determina as medidas do índice de

Tanimoto para a comparação, selecionando compostos com forma e potencial eletrostático semelhantes (MUCHMORE; SOUERS; AKRITPOULOU-ZANZE, 2006; BORGES *et al.*, 2018).

4.5 PREDIÇÕES *IN SILICO* DE PROPRIEDADES FARMACOCINÉTICAS

As predições das propriedades farmacocinéticas — ADME (Absorção, Distribuição, Metabolismo, Excreção) *in silico* foram preditas através do software Discovery Studio (2016).

4.6 PREDIÇÕES *IN SILICO* DE PROPRIEDADES TOXICOLÓGICAS E

DL₅₀

A avaliação da toxicidade foi realizada através do Software DEREK (*Deductive Estimation of Risk from Existing Knowledge*) de acordo com o protocolo proposto por (RAMOS *et al.*, 2019).

As propriedades de dose letal (DL₅₀=mg.kg⁻¹) e Classe de Toxicidade usadas neste estudo foram preditas pelo servidor online Protox II (BANERJEE *et al.*, 2018) (http://tox.charite.de/protox_II/index.php?site=home).

4.7 DOCKING MOLECULAR

As simulações de docking molecular foram realizadas através do servidor DockThor (<https://www.dockthor.incc.br/v2/>) (GUEDES *et al.*, 2021). As coordenadas usadas para 2OZ7 serão x = 26.9229, y = 1.3605 e z = 2.9661; elas estão baseadas em estudos relatados na literatura (BOHL *et al.*, 2007; SILVA *et al.*, 2018), de acordo com a interação entre AR e seu ligante padrão CPA. O programa realiza o docking convencional, utilizando um algoritmo genético como função de busca e o campo de força MMFF94 como função de avaliação, com uma abordagem de docking em Grid. O tamanho da caixa (Grid size) foi padronizado em 20x20x20 cm e discretização 0,25. A precisão do algoritmo foi determinada pelos seguintes valores: Número de avaliações (n= 1.000.000), tamanho da população (n= 750), número de corridas (n=24) objetivando analisar as conformações, as interações das moléculas com resíduos de aminoácidos da proteína e a energia de ligação (GUEDES *et al.*, 2021).

4.8 PREDIÇÃO DE ACESSIBILIDADE SINTÉTICA

A previsão de acessibilidade sintética (SA) foi realizada para os melhores resultados obtidos no docking molecular através do software AMBIT-SA e o servidor online SwissADME.

4.9 PREDIÇÕES *IN SILICO* DAS PROPRIEDADES MOLECULARES E BIOATIVIDADE

As propriedades moleculares das moléculas selecionadas pelo docking molecular foram preditas pelo software Molinspiration (<https://www.molinspiration.com/cgi-bin/properties>) e SwissADME (<http://www.swissadme.ch/>).

4.10 PREDIÇÕES *IN SILICO* DE ATIVIDADE BIOLÓGICA

A atividade biológica dos compostos selecionados foi realizada usando o servidor web Prediction of Activity Spectral for Substances (PASS) (<http://www.pharmaexpert.ru/passonline/index.php>), com o objetivo de prever se os ligantes são potencialmente ativos(Pa) ou inativos(Pi) com base nos seus valores de Pa e Pi (TESSEMA *et al.*, 2023; UPADHYAYA *et al.*, 2023).

4.11 LIPOFILICIDADE E SOLUBILIDADE EM ÁGUA

Os valores de Lipofilicidade e Solubilidade foram determinados com o auxílio do servidor SwissADME (<http://www.swissadme.ch/>) (DAINA; MICHIELIN; ZOETE, 2017) analisando os métodos iLOGP, XLOGP, WLOGP, MLOGP, SILICOS-IT para lipofilicidade e ESOL, ALI e SILICOS-IT para solubilidade em água, conforme a metodologia proposta por Sepay *et al.*, (2020). Este servidor possui um grande banco de dados onde é possível especular propriedades físico-químicas, lipofilicidade, solubilidade em água, farmacocinética, “*drug-likess*” e propriedades de química medicinal de maneira muito precisa (ADEGBOYEGA; JOHNSON; OMALE, 2021).

4.12 DINÂMICA MOLECULAR

As cargas atômicas moleculares foram obtidas com o protocolo Restrained Electrostatic Potential (RESP) utilizando o método Hartree-Fock com o conjunto base 6-31G*. Os parâmetros para cada molécula foram construídos usando o General Amber Force Field (GAFF) (WANG *et al.*, 2004). O pacote Amber 16 foi usado para as simulações de dinâmica molecular (DM) (CASE *et al.*, 2005). O campo de força ff14SB (MAIER *et al.*, 2015) foi usado para todas as simulações DM. Os hidrogênios ausentes no cristal da proteína foram adicionados pelo módulo tLEaP durante o processo de construção dos complexos. Os sistemas foram solvatados em uma caixa periódica de octaedro contendo moléculas de água explícitas descritas pelo modelo TIP3P (JORGENSEN *et al.*, 1983). A distância escolhida para o raio de cisalhamento foi de 12 Å para todas as direções do solvente ao soluto.

O método Particle Mesh Ewald foi utilizado para o cálculo de interações eletrostáticas (DARDEN; YORK; PEDERSEN, 1993), e as ligações envolvendo átomos de hidrogênio foram restringidas com o algoritmo SHAKE (RYCKAERT; CICCOTTI; BERENDSEN, 1977). A simulação da DM foi dividida em etapas de minimização de energia, aquecimento, equilíbrio e produção. O módulo lixadeira foi utilizado para ambas as etapas de minimização de energia, onde o método de descida mais íngreme e o algoritmo de gradiente conjugado foram empregados para realizar 1500 ciclos divididos entre as etapas. Na primeira etapa, o soluto foi restringido com uma força harmônica constante de 100 kcal/mol.Å⁻², enquanto as moléculas de água e anti-íon estavam livres. Na segunda etapa, os complexos ficaram com total liberdade de movimentação.

Em seguida, os sistemas foram gradualmente aquecidos por 600 ps até que a temperatura atingisse 300 K. O aquecimento foi dividido em cinco estágios, onde a frequência de colisão foi de 3,0 ps⁻¹ e o termostato Langevin foi utilizado para controle de temperatura (LZAGUIRRE *et al.*, 2001). Os átomos pesados foram restringidos com uma força harmônica constante de 50 kcal/mol.Å⁻² durante as quatro etapas iniciais. Na última etapa de aquecimento, a força harmônica constante foi removida. Essas simulações foram realizadas em volume constante (NVT). Na etapa de equilíbrio, os sistemas foram submetidos a uma simulação de 5

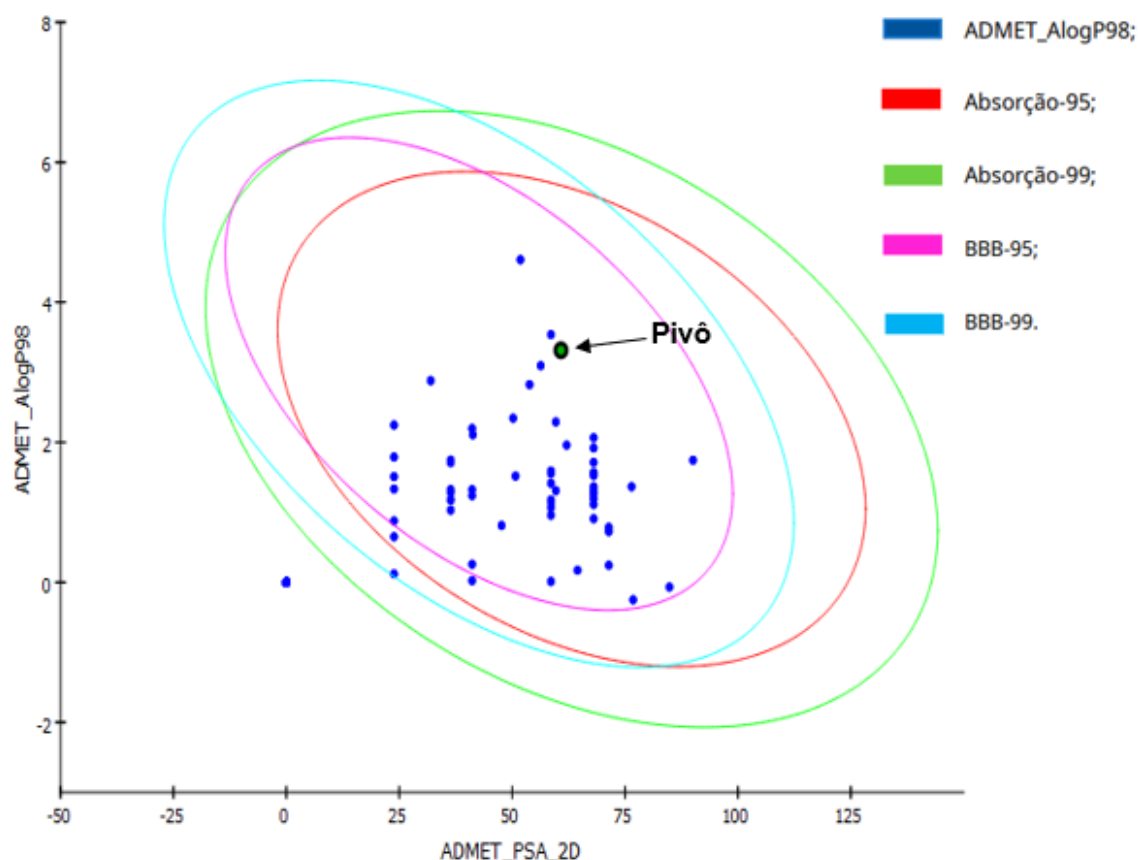
nanossegundos (ns) com temperatura de 300 K e pressão constante. Durante a fase de produção, foram gerados 100 ns de simulações DM.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 ANÁLISE DAS PROPRIEDADES FARMACOCINÉTICAS

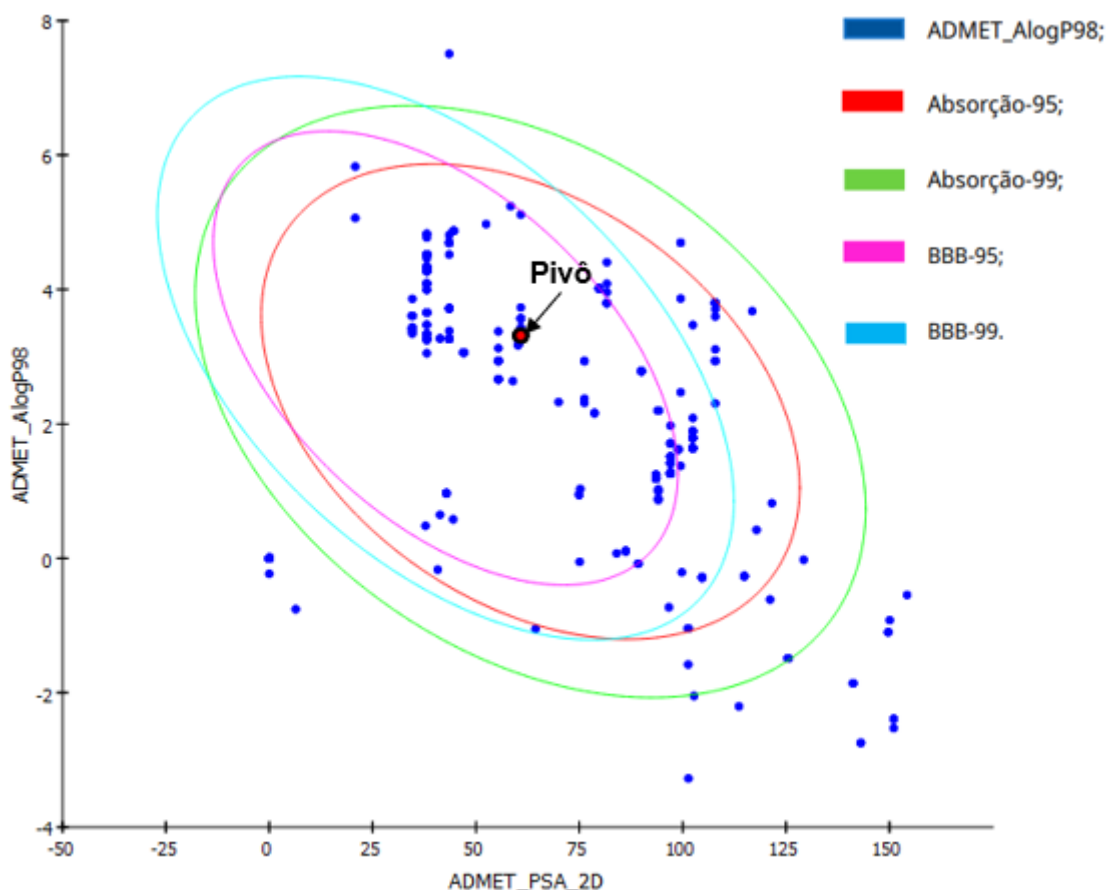
As 1000 moléculas resultantes do processo de triagem nas etapas de ROCS e EON – Bases de dados Princeton e Zinc database – foram submetidas à predição de propriedades farmacocinéticas: absorção, distribuição, metabolismo e excreção (ADME) através do programa Biovia Discovery Studio Visualizer (<https://discover.3ds.com/discovery-studio-visualizer-download>). Os gráficos das Figuras 10 e 11 foram obtidos com base nos valores de confiança de 95% e 99% para a barreira hematoencefálica (BBB), absorção intestinal humana (HIA), área de superfície polar (PSA) e lipossolubilidade (LogP) (BASTOS *et al.*, 2023).

FIGURA 10 – Gráfico ADMET da base de dados Princeton relacionando a área de superfície polar (PSA) aos valores ALogP98 calculados, as elipses representam os limites de confiança de 95% e 99%.



Fonte: O autor (2024)

FIGURA 11 – Gráfico ADMET da base de dados Zinc database relacionando a área de superfície polar (PSA) aos valores ALogP98 calculados, as elipses representam os limites de confiança de 95% e 99%.



Fonte: O autor (2024)

O CPA, está destacado nos gráficos, e foi utilizado como molécula pivô para as características farmacológicas. As elipses mostram os intervalos de confiança de 95% e 99% para candidatos promissores. Os encontrados nesta região apresentam características semelhantes a compostos com capacidade de $\geq 90\%$ a ser absorvido, valor < 140 para PSA e < 5 para ALogP98. Somente os candidatos dentro do limite de confiança de 99% são selecionados (BASTOS *et al.*, 2023).

Os resultados das previsões ADME podem ser observados nas Tabelas 2 e 3, os 29 compostos selecionados juntamente com o CPA foram avaliados, a partir dos descritores: Absorção Intestinal Humana, Solubilidade Aquosa, Penetração da Barreira Hematoencefálica, Ligação às Proteínas Plasmáticas e Ligação CYP2D6.

TABELA 2 – Parâmetros farmacocinéticos computacionais (ADME) da base de dados Princeton das moléculas selecionadas.

Moléculas	ADME				
	CYP2D6	Solubilidade	HIA	PPB	BBB
Pivô	Falso	2	0	Falso	2
omega_142667_53	Falso	3	0	Falso	2
omega_338556_89	Falso	3	0	Falso	3
omega_549113_34	Falso	2	0	Falso	3
omega_553808_24	Falso	3	0	Falso	2
omega_305992_3	Falso	2	0	Falso	2
omega_561116_50	Falso	3	0	Falso	2
omega_209731_26	Falso	3	0	Falso	3
omega_606997_163	Falso	3	0	Falso	2
omega_417096_21	Falso	3	0	Falso	3
omega_305985_7	Falso	3	0	Falso	3

BBB-barreira hematoencefálica (0 - Penetrante muito alto; 1 (alto); 2 (médio); 3 (baixo); 4 (muito baixo)

HIA-absorção intestinal humana (intervalo aceitável: intervalo é 0–2, onde 0 é uma boa absorção).

Solubilidade aquosa (intervalo aceitável: intervalo de 0–3) onde 3 é uma boa solubilidade.

Inibição do citocromo P450 (CYP450) 2D6 (falso - Não inibidor, verdadeiro - Inibidor).

PPB - Ligação às proteínas plasmáticas (falso - não se liga às proteínas plasmáticas, verdadeiro - liga-se às proteínas plasmáticas).

Fonte: O autor (2024)

Nenhum dos candidatos apresentaram potencial de se ligar a CYP2D6. Este gene codifica um membro da superfamília de enzimas do citocromo P450. As proteínas do citocromo P450 são monooxigenases que catalisam muitas reações envolvidas no metabolismo de drogas e na síntese de colesterol, esteroides e outros lipídios. Essa proteína se localiza no retículo endoplasmático e é conhecida por metabolizar até 25% dos medicamentos comumente prescritos. Ela está presente em 2% do conteúdo hepático do CYP é sua ligação pode prejudicar o metabolismo e efeito desejado de drogas (FAGERBERG *et al.*, 2014; BASTOS *et al.*, 2023). A grande maioria dos compostos (83%) apresentou uma boa solubilidade.

A ligação de medicamentos e metabólitos às proteínas plasmáticas é um fenômeno bem conhecido (MIYAMOTO *et al.*, 2021). Moléculas pequenas, incluindo medicamentos e produtos químicos, podem ligar-se às proteínas plasmáticas encontradas no sangue. A albumina e a glicoproteína alfa-1-ácida (α 1-AGP) são as duas principais proteínas plasmáticas de ligação a medicamentos (PELLEGATTI *et al.*, 2011). As proteínas plasmáticas, devido à sua alta concentração, controlam a

concentração do fármaco livre no plasma e em compartimentos em equilíbrio com o plasma, atenuando assim eficazmente a potência do fármaco *in vivo* (MIYAMOTO, M. *et al.*, 2021). Todas as moléculas analisadas, assim como a pivô (CPA), apresentaram resultados falsos negativos para ligação às proteínas plasmáticas, isso é explicado pelo baixo percentual de ligação dessas moléculas a essas proteínas.

A barreira hematoencefálica é uma barreira física semipermeável que protege o cérebro de substâncias nocivas, mas também pode limitar a penetração de medicamentos (AHMED, H.; BERGMANN; ZEITLINGER, 2022; WU *et al.*, 2023). Os resultados obtidos demonstram que a maioria das moléculas possui baixa penetração na BHE, o que é satisfatório para o alvo (receptor de andrógeno).

TABELA 3 – Parâmetros farmacocinéticos computacionais (ADME) da base de dados Zinc database das moléculas selecionadas.

Moléculas	ADMET				
	CYP2D6	Solubilidade	HIA	PPB	BBB
Pivô	Falso	2	0	Falso	2
ZINC04097308_1_1	Falso	3	0	Falso	3
ZINC03830600_1_3	Falso	3	0	Falso	3
ZINC03977981_1_1	Falso	3	0	Falso	3
ZINC04212851_1_1	Falso	3	0	Falso	3
ZINC13540519_1_1	Falso	3	0	Falso	3
ZINC36388590_1_3	Falso	2	0	Falso	2
ZINC03875357_1_1	Falso	3	0	Falso	3
ZINC03876158_1_1	Falso	3	0	Falso	3
ZINC04097304_1_1	Falso	3	0	Falso	3
ZINC04212854_1_1	Falso	3	0	Falso	3
ZINC34176695_1_0	Falso	2	0	Falso	2
ZINC03833821_1_1	Falso	3	0	Falso	3
ZINC03830602_1_1	Falso	3	0	Falso	3
ZINC34176694_1_3	Falso	2	0	Falso	2
ZINC04340274_1_1	Falso	3	0	Falso	3
ZINC03831269_1_1	Falso	3	0	Falso	3
ZINC03831270_1_0	Falso	3	0	Falso	3
ZINC03876136_1	Falso	3	0	Falso	3
ZINC03830599_1_1	Falso	3	0	Falso	3

BBB - barreira hematoencefálica (0 - Penetrante muito alto; 1 (alto); 2 (médio); 3 (baixo); 4 (muito baixo)
HIA - (absorção intestinal humana _ intervalo aceitável: intervalo é 0–2, onde 0 é uma boa absorção).
Solubilidade aquosa (intervalo aceitável: intervalo de 0–3) onde 3 é uma boa solubilidade.
Inibição do citocromo P450 (CYP450) 2D6 (falso - Não inibidor, verdadeiro - Inibidor).
PPB - Ligação às proteínas plasmáticas (falso- não se liga às proteínas plasmáticas, verdadeiro - liga-se às proteínas plasmáticas).

Fonte: O autor (2024)

5.2 ANÁLISE DAS PROPRIEDADES TOXICOLÓGICAS e DL₅₀

A análise toxicológica, *in silico*, foi realizada por meio do software DEREK 10.0.2 Nexus, e a Tabela 4 mostra os resultados das previsões toxicológicas para os compostos selecionados para verificar alertas de toxicidade devido à presença de grupos toxicofóricos nos compostos gerando alertas a serem investigados. A Classe de Toxicidade foi obtida por meio do servidor online Protox II, bem como o valor de Dose Letal (DL₅₀) em mg.kg⁻¹ (BANERJEE *et al.*, 2018). Esses parâmetros foram fundamentais para a seleção das estruturas mais promissoras deste estudo. Nesta etapa foram selecionadas as estruturas sem alerta ou que estivessem no intervalo de classe toxicológica IV – VI e apresentassem menos alertas de possíveis toxidade quando comparadas a molécula pivô, o que resultou em 19 estruturas que foram submetidas ao estudo de docking molecular.

TABELA 4 – Predições das propriedades toxicológicas e DL₅₀.

Compostos	Alerta de Previsão de Toxicidade (Previsão de Lhasa)	Grupo Toxicofórico	Alerta de toxicidade	DL ₅₀ Tóxico ¹	Classe de toxicidade ²
Pivô	Carcinogenicidade em camundongos e ratos	Progestagênio ou derivado	PLAUSÍVEL	5000	V
	Hepatotoxicidade em humanos, camundongos e ratos	Hidrocarbonetos halogenados			
	Genotoxicidade inespecífica in vitro em humanos e ratos	3-Ceto,4-delta,6-delta esteroide	CERTA		
	Genotoxicidade inespecífica in vitro em camundongos	3-Ceto,4-delta,6-delta esteroide	PROVÁVEL		
	Genotoxicidade inespecífica in vivo em humanos e camundongos	3-Ceto,4-delta,6-delta esteroide	PROVÁVEL		
	Genotoxicidade inespecífica in vivo em ratos	3-Ceto,4-delta,6-delta esteroide	CERTA		
Omega-01	–	–	Sem alertas	696	IV
Omega-02	–	–	Sem alertas	800	IV
Omega-04	–	–	Sem alertas	2000	IV
Omega-05	–	–	Sem alertas	500	IV

Omega-10	–	–	Sem alertas	602	IV
ZINC04097308	Toxicidade ocular in vivo em humanos, camundongos e ratos	Corticosteroide	PLAUSÍVEL	1451	IV
	Sensibilização cutânea em humanos, camundongos e ratos	1,2–Dicarbonil ou precursor	PLAUSÍVEL		
	Teratogenicidade em humanos, camundongos e ratos	Glicocorticoides	PLAUSÍVEL		
ZINC03830600	Toxicidade ocular in vivo em humanos, camundongos e ratos	Corticosteroide	PLAUSÍVEL	5010	VI
	Sensibilização cutânea em humanos, camundongos e ratos	1,2–Dicarbonil ou precursor	PLAUSÍVEL		
	Teratogenicidade em humanos, camundongos e ratos	Glicocorticoides	PLAUSÍVEL		
ZINC03977981	Toxicidade ocular in vivo em humanos, camundongos e ratos	Corticosteroide	PLAUSÍVEL	4000	V
	Sensibilização cutânea em humanos, camundongos e ratos	1,2–Dicarbonil ou precursor	PLAUSÍVEL		
	Teratogenicidade em humanos, camundongos e ratos	Glicocorticoides	PLAUSÍVEL		
ZINC04212851	Toxicidade ocular in vivo em humanos, camundongos e ratos	Corticosteroide	PLAUSÍVEL	3710	V
	Sensibilização cutânea em humanos, camundongos e ratos	1,2–Dicarbonil ou precursor	PLAUSÍVEL		
	Teratogenicidade em humanos, camundongos e ratos	Glicocorticoides	PLAUSÍVEL		
ZINC13540519	Toxicidade ocular in vivo em humanos, camundongos e ratos	Corticosteroide	PLAUSÍVEL	5000	V
	Sensibilização cutânea em humanos	1,2–Dicarbonil ou precursor	CERTO		
	Sensibilização cutânea em camundongos e ratos	1,2–Dicarbonil ou precursor	PROVÁVEL		
	Teratogenicidade em humanos e ratos	Glicocorticoides	PROVÁVEL		
	Teratogenicidade em camundongos	Glicocorticoides	CERTO		

ZINC36388590	Dano cromossômico in vitro em humanos, camundongos e ratos	Composto de carbonila alfa-halo	PLAUSÍVEL	3000	V
	Irritação dos olhos em humanos, camundongos e ratos	Alfa-halo cetona	PLAUSÍVEL		
	Lacrimação em humanos, camundongos e rato	Alfa-halo cetona	PLAUSÍVEL		
	Sensibilização cutânea em humanos, camundongos e ratos	Haloalcano	PLAUSÍVEL		
ZINC03875357	Toxicidade ocular in vivo em humanos	Corticosteroide	CERTO	1680	IV
	Toxicidade ocular in vivo em camundongos e ratos	Corticosteroide	PROVÁVEL		
	Sensibilização cutânea em humanos, camundongos e ratos	1,2-Dicarbonil ou precursor	PLAUSÍVEL		
	Teratogenicidade em humanos, camundongos e ratos	Glicocorticoides	PLAUSÍVEL		
ZINC03876158	Toxicidade ocular in vivo em humanos, camundongos e ratos	Corticosteroide	PLAUSÍVEL	3000	V
	Teratogenicidade em humanos, camundongos e ratos	Glicocorticoides	PLAUSÍVEL		
ZINC04097304	Toxicidade ocular in vivo em humanos, camundongos e ratos	Corticosteroide	PLAUSÍVEL	4500	V
	Sensibilização cutânea em humanos, camundongos e ratos	1,2-Dicarbonil ou precursor	PLAUSÍVEL		
	Teratogenicidade em humanos, camundongos e ratos	Glicocorticoides	PLAUSÍVEL		
ZINC04212854	Toxicidade ocular in vivo em humanos, camundongos e ratos	Corticosteroide	PLAUSÍVEL	3000	V
	Sensibilização cutânea em humanos, camundongos e ratos	1,2-Dicarbonil ou precursor	PLAUSÍVEL		
	Teratogenicidade em humanos, camundongos e ratos	Glicocorticoides	PLAUSÍVEL		
	Toxicidade ocular in vivo em humanos, camundongos e ratos	Corticosteroide	PLAUSÍVEL	5010	VI

ZINC03830602	Sensibilização cutânea em humanos, camundongos e ratos	1,2-Dicarbonil ou precursor	PLAUSÍVEL	3000	V
	Teratogenicidade em humanos, camundongos e ratos	Glicocorticoides	PLAUSÍVEL		
ZINC34176694	Dano cromossômico in vitro em humanos, camundongos e ratos	Composto de carbonila alfa-halo	PLAUSÍVEL		
	Irritação dos olhos em humanos, camundongos e ratos	Alfa-halo cetona	PLAUSÍVEL		
	Lacrimação em humanos, camundongos e rato	Alfa-halo cetona	PLAUSÍVEL		
	Sensibilização cutânea em humanos, camundongos e ratos	Haloalcano	PLAUSÍVEL		
ZINC04340274	Toxicidade ocular in vivo em humanos, camundongos e ratos	Corticosteroide	PLAUSÍVEL		
	Sensibilização cutânea em humanos, camundongos e ratos	1,2-Dicarbonil ou precursor	PLAUSÍVEL		
	Teratogenicidade em humanos, camundongos e ratos	Glicocorticoides	PLAUSÍVEL		
	Sensibilização cutânea em humanos, camundongos e ratos	1,2-Dicarbonil ou precursor	PLAUSÍVEL		
	Teratogenicidade em humanos, camundongos e ratos	Glicocorticoides	PLAUSÍVEL	5010	VI
	Sensibilização cutânea em humanos, camundongos e ratos	1,2-Dicarbonil ou precursor	PLAUSÍVEL		
	Teratogenicidade em humanos, camundongos e ratos	Glicocorticoides	PLAUSÍVEL		
	Sensibilização cutânea em humanos, camundongos e ratos	1,2-Dicarbonil ou precursor	PLAUSÍVEL		
	Teratogenicidade em humanos, camundongos e ratos	Glicocorticoides	PLAUSÍVEL		
	Toxicidade ocular in vivo em humanos, camundongos e ratos	Corticosteroide	PLAUSÍVEL	5010	VI
	Sensibilização cutânea em humanos,	1,2-Dicarbonil ou precursor	PLAUSÍVEL		

ZINC03830599_1_1	camundongos e ratos
	Teratogenicidade em humanos, camundongos e ratos
	Glicocorticoides
	PLAUSÍVEL

¹DL₅₀= mg/kg. ²Classe 1: fatal se ingerido (DL₅₀ ≤ 5); Classe 2: fatal se ingerido (5 < DL₅₀ ≤ 50); Classe 3: tóxico se ingerido (50 < DL₅₀ ≤ 300); Classe 4: perigoso se ingerido (300 < DL₅₀ ≤ 2000); Classe 5: pode ser perigoso se engolido (2000 < DL₅₀ ≤ 5000); Classe 6: não tóxico (DL₅₀ > 5000). Dados obtidos no servidor on-line Protox.
 Fonte: O autor (2024)

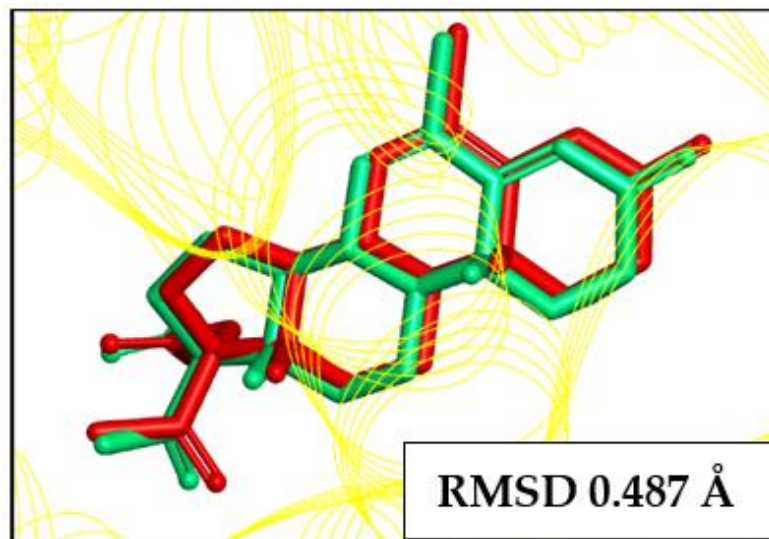
5.3 SIMULAÇÕES DE DOCKING MOLECULAR

Na análise toxicológica foram selecionadas 19 moléculas para a etapa de docking molecular (MD). Entretanto, foi necessário à validação do protocolo de MD utilizado nesse trabalho através do *redocking*, para ver se o software é capaz de prever corretamente a posição do ligante no sítio ativo da proteína. Esse processo consiste em comparar a posição de um ligante cristalizado com a posição de um ligante ancorado ao sítio ativo da mesma proteína. Ele foi realizado para comparação, através da sobreposição estrutural entre a estrutura original, que contém a proteína (Receptor de Andrógeno) e o inibidor 2OZ7, com o resultado obtido na simulação de *redocking* através do servidor DockThor.

Os parâmetros padrão do algoritmo foram definidos da seguinte forma: (1) 24 corridas de encaixe, (2) 1.000.000 avaliações por corrida de encaixe e (3) população de 1.000 indivíduos. A qualidade da pontuação de docking proteína-ligante foi avaliada com base no Root Mean Square Deviation (RMSD) entre a melhor pontuação da pose de docking e o modo de ligação experimental do ligando de cristal (SANTOS *et al.*, 2020; GUEDES *et al.*, 2021). O valor de RMSD entre as poses, que são as conformações adquiridas pela molécula, de menor energia pode ser utilizado como método de validação ao comparar com a pose modelo de cristalografia já existente (RAMOS *et al.*, 2022).

Os resultados obtidos da validação do docking molecular foram considerados satisfatórios, em que as posições relativas do ligante cristalográfico e do ligante ancorado foram semelhantes (Figura 12). O RMSD obtido no processo de *redocking* da melhor posição foi de 0.487Å, validando o protocolo (RAMÍREZ; CABALLERO, 2018).

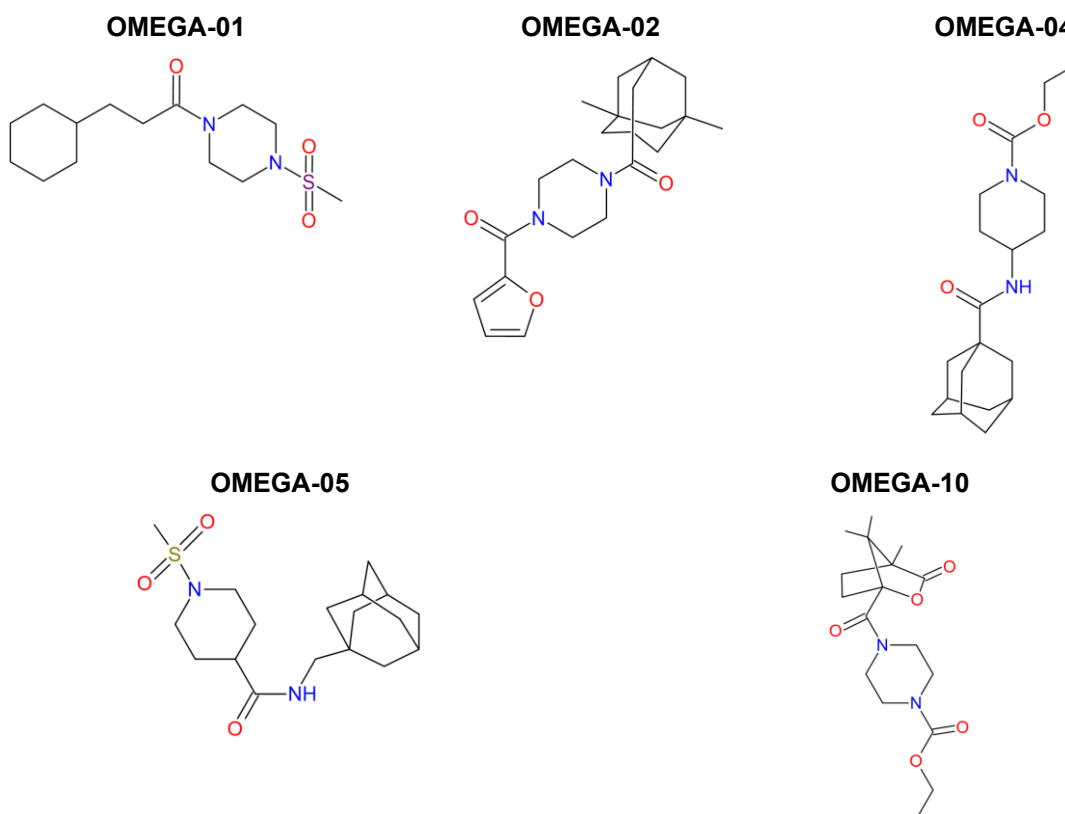
FIGURA 12 – Validação do protocolo do docking molecular: comparação entre o ligante cristalográfico (verde) e a melhor conformação resultante da simulação computacional (vermelho).



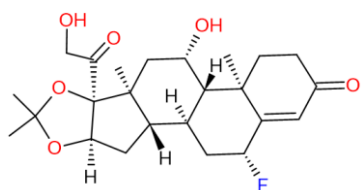
Fonte: O autor (2024)

Após, validação do processo, as 19 moléculas (Figura 13) selecionadas na análise toxicológica foram submetidas ao teste de docking molecular (Figura 14), através do servidor DockThor seguindo os mesmos parâmetros utilizados no redocking.

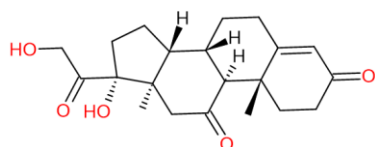
FIGURA 13 – Moléculas selecionadas para simulação de docking molecular.



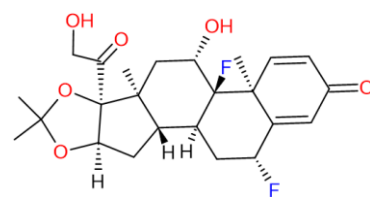
ZINC04097308



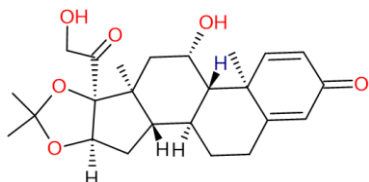
ZINC03830600



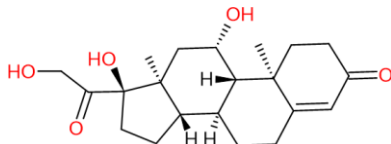
ZINC03977981



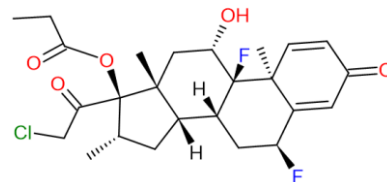
ZINC04212851



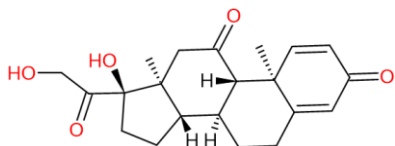
ZINC13540519



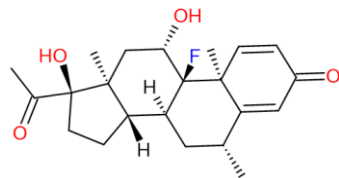
ZINC36388590



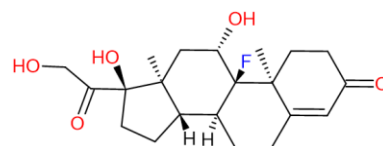
ZINC03875357



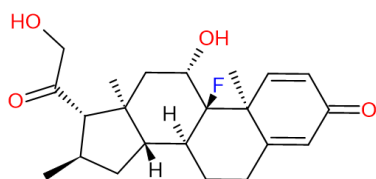
ZINC03876158



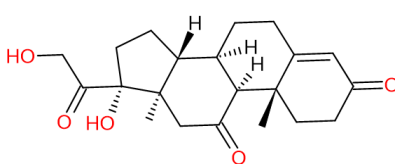
ZINC04097304



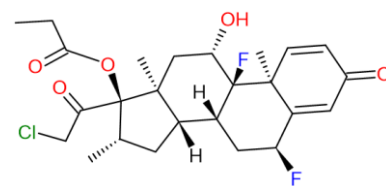
ZINC04212854



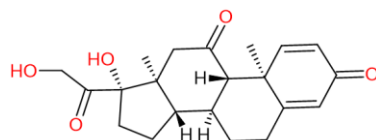
ZINC03830602



ZINC34176694



ZINC04340274



ZINC03830599

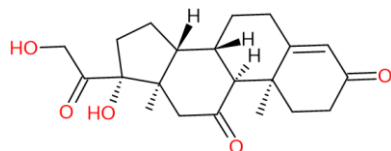
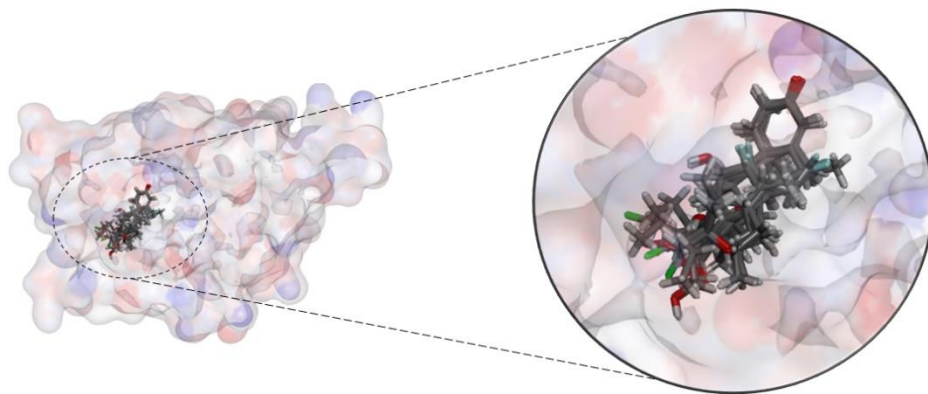


FIGURA 14 – Moléculas acopladas no sítio ativo do AR.



Fonte: O autor (2024)

Nesta etapa foi usado como critério de seleção os valores de afinidade de ligação (ΔG) em comparação com a molécula pivô, o que resultou em 4 moléculas promissoras, conforme a tabela 5.

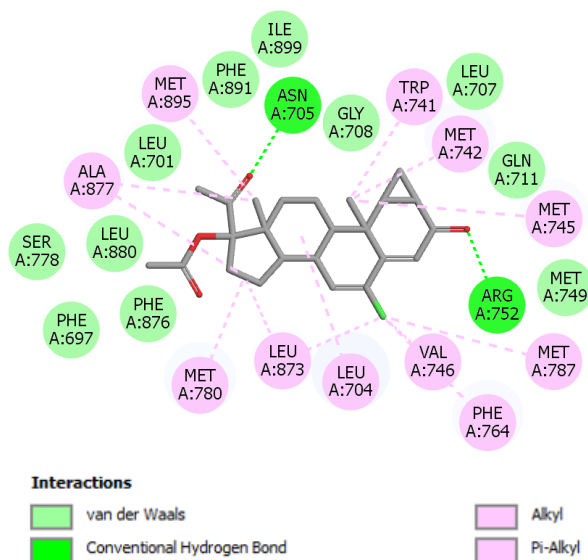
TABELA 5 – Afinidade de ligação e interações das moléculas promissoras com o AR.

MOLÉCULAS	ΔG (kcal·mol⁻¹)	Aminoácidos que Interagem Através de Ligações de Hidrogênio	Aminoácidos que interagem de forma hidrofóbica
PIVÔ	-10,827	ASN705, ARG752.	ALA877, GLN711, GLY708, ILE899, LEU701, LEU704, LEU707, LEU873, LEU880, MET742, MET745, MET749, MET780, MET787, MET895, PHE697, PHE764, PHE876, PHE891, SER778, TRP741, VAL746.
ZINC34176694	-10,850	ARG752.	ALA877, ARG779, ASN705, GLN711, GLY708, ILE899, LEU701, LEU704, LEU707, LEU873, LEU880, MET742, MET745, MET749, MET780, PHE697, PHE764, PHE876, SER778, TRP741, VAL746.
ZINC03876158	-10,369	MET780	ALA877, ARG752, ASN705, GLN711, GLY708, ILE899, LEU701, LEU704, LEU707, LEU873, LEU880, MET742, MET745, MET749, MET787, MET895, PHE764, PHE876, PHE891, TRP741, VAL746.
ZINC04097308	-10,260	ALA877, ARG752, ASN705.	GLN711, GLY708, ILE899, LEU701, LEU704, LEU707, LEU873, LEU880, LEU881, MET742, MET745, MET749, MET780, MET787, MET895, PHE697, PHE764, PHE876, PHE891, SER778, TRP741, VAL746.
ZINC03977981	-10,237	ASN705.	ALA877, ARG752, GLN711, GLY708, ILE899, LEU701, LEU704, LEU707, LEU873, LEU880, LEU881, MET742, MET745, MET749, MET780, MET787, MET895, PHE697, PHE764, PHE876, PHE891, SER778, TRP741, VAL746.

Fonte: O autor (2024)

A molécula pivô apresentou uma afinidade de ligação de $-10,827 \text{ kcal.mol}^{-1}$ com o receptor de andrógeno interagindo com dois resíduos de aminoácidos - **ASN705, ARG752** - através das ligações de hidrogênio. As ligações de hidrogênio são de grande importância para estabilidade do ligante na proteína tendo papel importante na sua afinidade de ligação (LU *et al.*, 2005; MUHAMMAD *et al.*, 2021). Também ocorrem interações do tipo aquil, π -alquil e van der Waals que interagem de forma hidrofóbica (Figura 15).

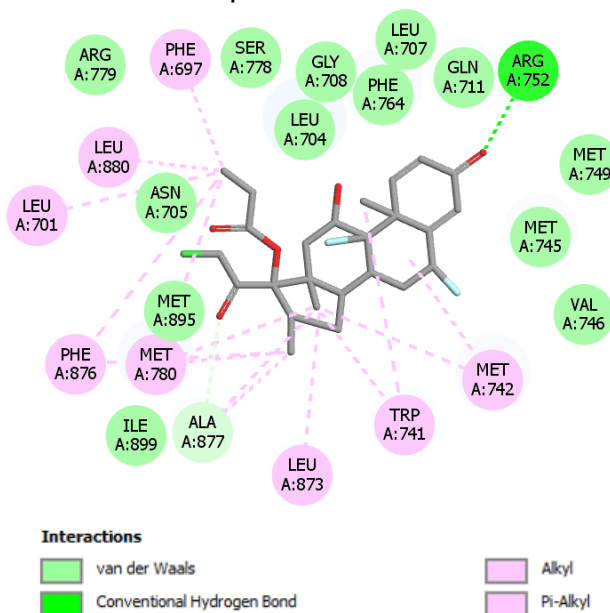
FIGURA 15 – Interação da molécula pivô com o AR, diagrama de interações 2D .



Fonte: O autor (2024)

O melhor valor de afinidade de ligação ocorreu para a molécula ZINC34176694 obtendo valores de $-10,850 \text{ kcal.mol}^{-1}$, superior a molécula pivô, porém para esse ligante ocorreu apenas uma ligação de hidrogênio do oxigênio da carbonila com o resíduo ARG752 (Figura 16). As demais interações são hidrofóbicas do tipo aquil, π -alquil e van der Waals. Essas interações representam uma similaridade de 87,5% com a molécula pivô, demonstrando um resultado bastante satisfatório.

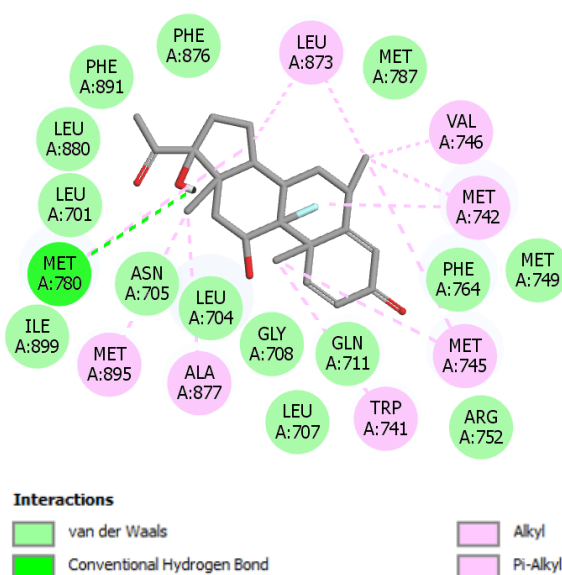
FIGURA 16 – Representação de interações em 2D obtido por meio de docking molecular para ZINC34176694.



Fonte: O autor (2024)

O ligante ZINC03876158 (Figura 17) teve um valor de afinidade de ligação - 10,369 kcal.mol⁻¹, apresentando uma interação de hidrogênio com o resíduo de aminoácido MET780, interação essa que não ocorre na molécula pivô. As outras interações previstas são hidrofóbicas e o conjunto total representa uma similaridade de 91,7% em relação a pivô.

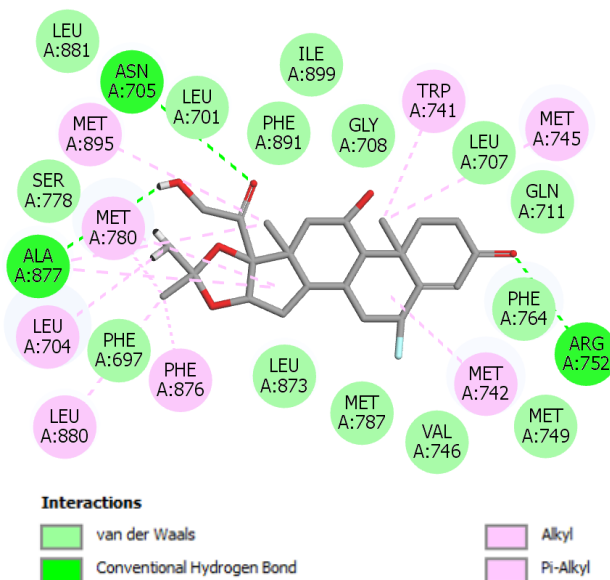
FIGURA 17 – Representação de interações em 2D obtido por meio de docking molecular para ZINC03876158.



Fonte: O autor (2024)

Para o ligante ZINC04097308, observa-se três ligações de hidrogênio com os resíduos de aminoácidos - ALA877, ARG752, ASN705 - apresentando uma afinidade de ligação $-10,260 \text{ kcal.mol}^{-1}$ (Figura 18). Todas as outras interações são hidrofóbicas, e observa-se 100% da presença dos resíduos de aminoácidos presentes na molécula pivô.

FIGURA 18 – Representação de interações em 2D obtido por meio de docking molecular para ZINC04097308.

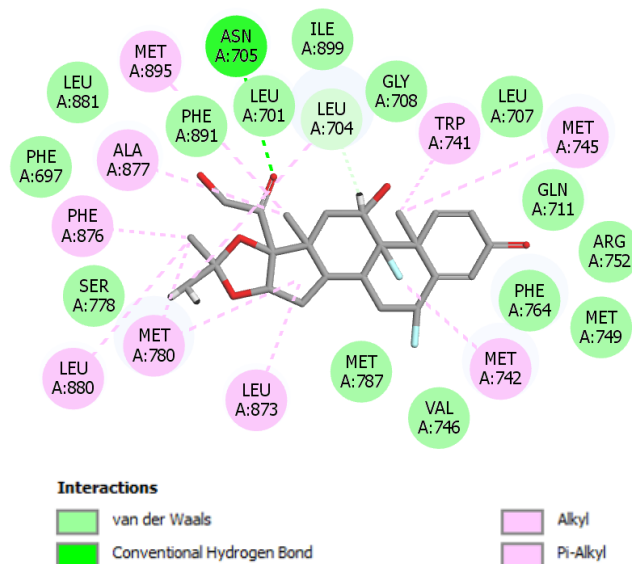


Fonte: O autor (2024)

A afinidade de ligação do ligante ZINC03977981 foi de $-10,237 \text{ kcal.mol}^{-1}$, apresentando uma ligação de hidrogênio com o resíduo de aminoácido ASN705. O restante das interações é do tipo hidrofóbicas (Figura 19).

Ao analisar os resultados das interações, observa-se que todos os ligantes apresentam mais de 80% de similaridade em relação a molécula pivô, fator esse que foi um dos critérios de seleção para as etapas seguintes do estudo.

FIGURA 19 – Representação de interações em 2D obtido por meio de docking molecular para ZINC03977981.

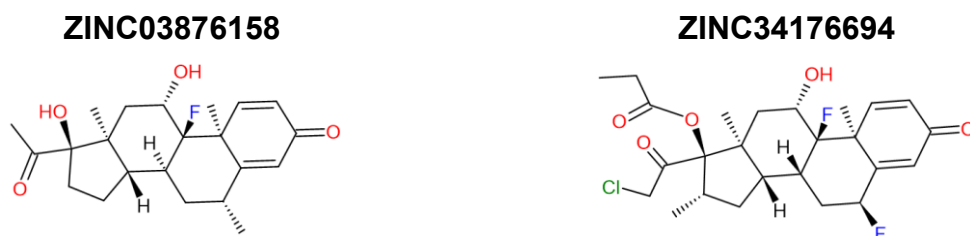


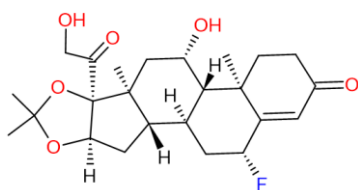
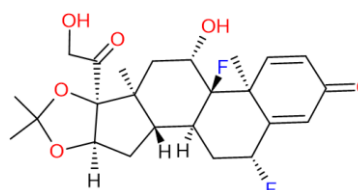
Fonte: O autor (2024)

5.4 PREDIÇÕES DE ACESSIBILIDADE SINTÉTICA

No final do processo de docking molecular, as 4 moléculas (Figura 20) com os resultados mais promissores: ZINC03876158 , ZINC34176694, ZINC04097308 e ZINC03977981 foram submetidas a uma pesquisa no SciFinder®, disponível on-line no Chemical Abstract Service (CAS) (<https://scifinder.cas.org/>), para obter informações adicionais sobre as estruturas e dos experimentos com atividades biológicas envolvendo as moléculas. A molécula ZINC03876158 apresenta CAS 3918-13-6, sendo empregada como glicocorticoide, no tratamento de condições alérgicas e inflamatórias oculares, porém sem nenhuma informação para o tratamento do CaP. Já as moléculas ZINC34176694, ZINC04097308 e ZINC03977981 não foram encontradas informações, o que demonstra serem moléculas sem nenhum dado experimental na literatura. Essas informações, vem confirmar o ineditismo dessas moléculas no estudo do CaP.

FIGURA 20 – Moléculas selecionadas no docking molecular.



ZINC04097308**ZINC03977981**

Após a avaliação de docking molecular, as 4 moléculas selecionadas passaram pelo teste de acessibilidade sintética (SA), objetivando verificar aquelas que tem maior probabilidade de serem sintetizadas. A predição de SA ocorreu através do software AMBIT-SA e SwissADME. No software AMBIT-SA um algoritmo calcula diversos parâmetros relacionado as características químicas das estruturas e pontua de 0 a 100, onde o valor 100 refere-se a uma molécula com grande facilidade de ser sintetizada (SUN *et al.*, 2017; BASTOS *et al.*, 2023). Já o SwissADME baseia-se principalmente na suposição de que a frequência de fragmentos moleculares em moléculas 'realmente' obteníveis se correlaciona com a facilidade de síntese. A contribuição fragmentária para SA deve ser favorável para frações químicas frequentes e desfavorável para frações raras. A pontuação é normalizada para variar de 1 (muito fácil) a 10 (muito difícil de sintetizar) (DAINA; MICHIELIN; ZOETE, 2017).

O Acetato de ciproterona (CPA) foi usado como padrão de comparação obtendo um resultado de SA de 23,712 no AMBIT e 5,54 no SwissADME, o que lhe classifica em ambos os softwares de SA mediana (Tabela 6). Os resultados preditos para as moléculas ZINC03876158 , ZINC34176694, ZINC04097308 e ZINC03977981 apresentaram valores de SA muito próximos da molécula pivô, isso provavelmente ocorre devido à semelhança nas suas fórmulas estruturais formadas principalmente de 4 anéis. Em ambos os softwares as moléculas foram classificadas como de acessibilidade sintética mediana semelhante a molécula pivô. Portanto, nenhuma molécula foi descartada para a etapa seguinte da pesquisa.

TABELA 6 – Previsão de Acessibilidade Sintética através da ferramenta web gratuita AMBIT e SwissADME*.

MOLECULA	AMBIT ^(a)	SwissADME ^(b)
	SA SCORE	
PIVÔ	23,712	5,54
ZINC34176694	23,097	5,82
ZINC03876158	31,245	5,40
ZINC04097308	20,114	5,91
ZINC03977981	22,738	6,02

*Acessibilidade Sintética (SA). (a) O servidor web AMBIT varia de acessibilidade fácil (pontuação ≥ 50), acessibilidade mediana ($10 < \text{pontuação} \leq 49$) e acessibilidade difícil (pontuação ≤ 10). (b) As pontuações da SwissADME—SA variam de 1 (muito fácil) a 10 (muito difícil).
Fonte: O autor (2024)

5.5 PREDIÇÕES *IN SILICO* DAS PROPRIEDADES MOLECULARES E BIOATIVIDADE

Na análise das propriedades moleculares, foi avaliado a biodisponibilidade oral teórica das moléculas selecionadas na acessibilidade sintética, tendo como parâmetro a “Regra dos Cinco - RO5” de Lipinski (LIPINSKI *et al.*, 1997), que estabelece que pelo menos três de quatro requisitos devam ser apresentados para que o composto possua uma boa biodisponibilidade. Para esta predição, foi empregado o programa Molinspiration Cheminformatics (<http://www.molinspiration.com/cgi-bin/properties>) e SwissADME. Os resultados obtidos estão apresentados na tabela 7.

Os resultados obtidos estão apresentados na tabela 7, e demonstraram, assim, como a molécula pivô, que nenhuma das moléculas analisadas violou a regra de Lipinski, o que prediz que elas apresentam uma boa biodisponibilidade oral. Esses resultados demonstram teoricamente que essas moléculas apresentarão uma boa distribuição pelo organismo, possibilitando maior capacidade de atingir áreas do corpo enfermas e executar seu efeito terapêutico e farmacológico (ALVES *et al.*, 2019). Estas propriedades estão diretamente relacionadas com a farmacocinética molecular, implicando que essas moléculas podem se tornar fortes candidatos a um medicamento.

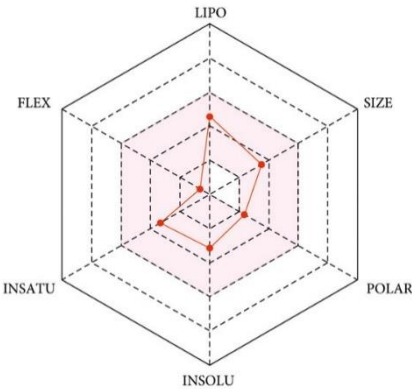
TABELA 7 – Parâmetros farmacocinéticos importantes para uma boa disponibilidade oral dos compostos.

MOLÉCULAS	Molinspirations calculations							
	Vol ^[a]	TPSA ^[b]	NROTB ^[c]	HBA ^[d]	HBD ^[e]	LogP ^[f]	MW ^[g]	Lipinski's violations
Regra	—	—	—	≤ 10	≤ 5	≤ 5	≤ 500	≤ 1
Pivô	376,63	60,45	3	4	0	4,44	416,94	0
ZINC34176694	421,86	80,67	5	5	1	3,69	484,97	0
ZINC03876158	349,81	74,60	1	4	2	2,39	376,47	0
ZINC04097308	396,78	93,07	2	6	2	2,61	436,52	0
ZINC03977981	395,20	93,07	2	6	2	2,57	452,49	0

^[a]**Vol.** - Volume; ^[b]**TPSA** - Área de Superfície Polar Topológica; ^[c]**NROTB** - Número de Ligações Rotativas; ^[d]**HBA** - Número de Doadores de Ligações de Hidrogênio; ^[e]**HBD** - Número de Aceptores de Ligações de Hidrogênio; ^[f]**LogP** – Coeficiente de Partição; ^[g]**MW** - Peso Molecular.
Fonte: O autor (2024)

Com o auxílio do software SwissADME foi determinado o gráfico Bioavailability Radar (Figura 21), responsável por apresentar um conjunto de propriedades favoráveis para uma excelente biodisponibilidade oral. A área marcada em rosa tem a função de delimitar as condições ideais de biodisponibilidade para administração oral de um medicamento (MURAD *et al.*, 2022).

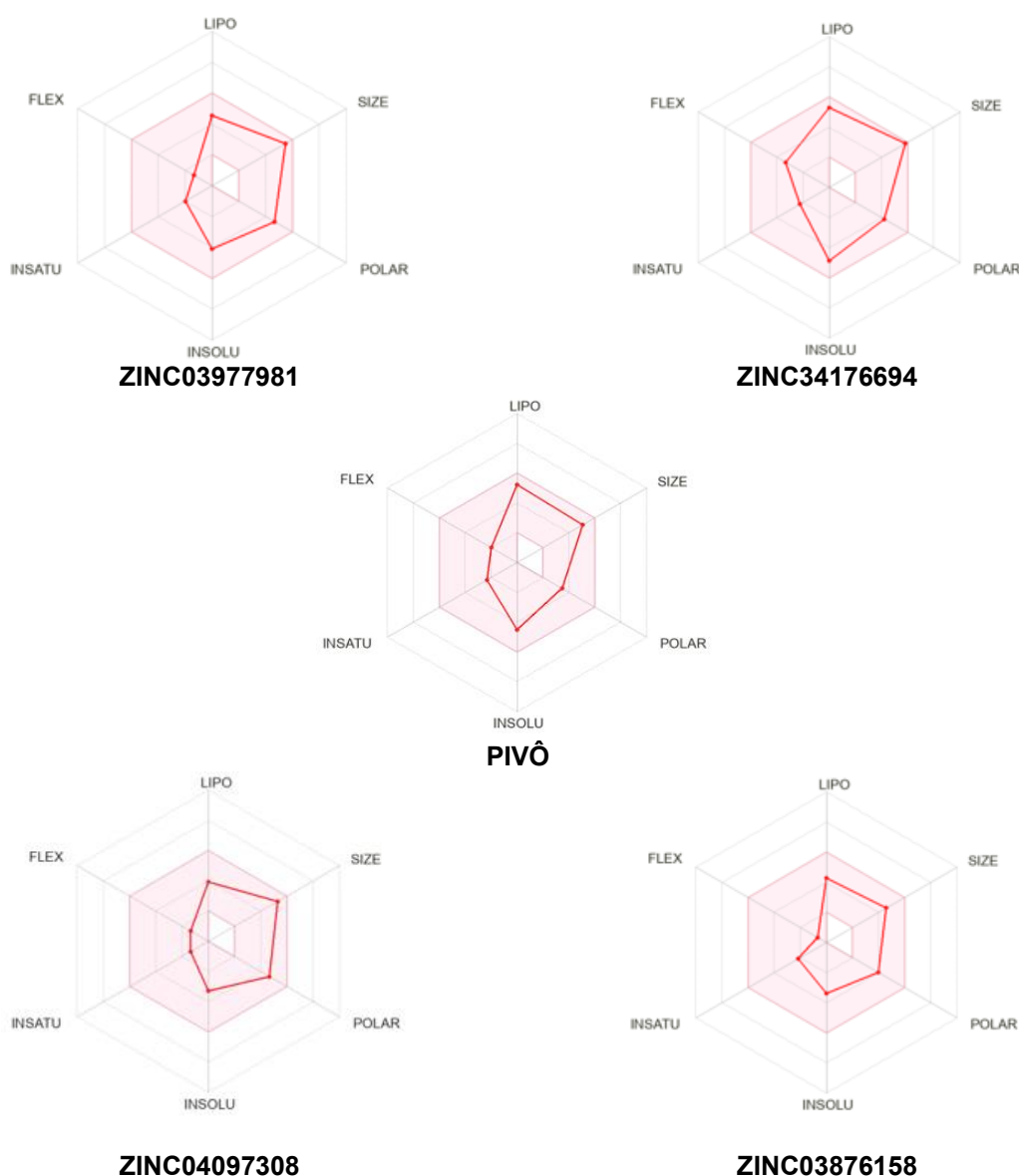
FIGURA 21 – Gráfico de Bioavailability Radar.



Fonte: O autor (2023)

Como pode ser observado na figura 22, todas as moléculas apresentam teoricamente uma excelência para biodisponibilidade oral, uma vez que, todos os parâmetros físico-químicos avaliados estão dentro da área rosada, o que representa os padrões satisfatórios de biodisponibilidade. Quanto maior é o número de parâmetros dentro da faixa ideal, maior é a probabilidade de a molécula ser bioativa por via oral (DAINA; MICHIELIN; ZOETE, 2017).

FIGURA 22 – Radar de biodisponibilidade das moléculas hits.



Legenda:

LIPO (lipofilicidade): $-0.7 < \text{XLOGP3} < +5.0$

POLAR (polaridade): $20 < \text{TPSA} < 130\text{\AA}^2$

INSATU (insaturação): $0.25 < \text{fração de Csp}^3 < 1$

SIZE (tamanho da molécula): $150 < M < 500\text{g/mol}$

INSOLU (insolubilidade): $-6 < \text{Log S (ESOL)} < 0$

FLEX (flexibilidade): $0 < \text{grupos rotáveis} < 9$

Fonte: O autor (2024)

Todas essas moléculas passaram em seguida pela predição de bioatividade. O escore de bioatividade das moléculas selecionadas também foi analisada usando a ferramenta Molinspiration Cheminformatics server ([http:// www.molinspiration.com](http://www.molinspiration.com)). Nesta técnica de química computacional grandes bancos de dados químicos são analisados a fim de identificar possíveis novos candidatos a fármacos (MISHRA *et al.*, 2018). A bioatividade dessas moléculas orais selecionadas foi avaliada contra

seis estruturas proteicas diferentes: ligante de receptores acoplados à proteína G (GPCR), modulador de canal iônico, inibidor de quinase, ligante de receptor nuclear, inibidor de protease e inibidor enzimático (VARIKOTI *et al.*, 2023) (Tabela 8).

De acordo com Srivastava *et al.* (2015) quanto mais rica a pontuação de bioatividade, maior a probabilidade de a molécula específica ser ativa como uma droga. Está bem documentado que, se o escore de bioatividade for maior que 0,0 as moléculas têm melhor atividade biológica. Se a pontuação de bioatividade for de -0,5 a 0,0 as moléculas têm atividade moderada e menor que -0,5, as moléculas não têm atividade biológica (NATH *et al.*, 2021).

Analisando os dados da Tabela 8 é possível observar que os compostos avaliados apresentaram excelente potencial como ligante do receptor nuclear, onde todos tiveram pontuações superiores a molécula pivô (Score 0.92). Destacando o composto ZINC03977981 que apresentou a maior pontuação (Score 1.76) o que dá uma variação percentual em relação a molécula pivô de $\pm 91.3\%$. As moléculas analisadas também apresentaram resultados satisfatórios para inibição enzimática e protease. No caso da inibição enzimática os compostos ZINC038758 (Score 0.79) e ZINC03977981 (Score 0.79) apresentaram os melhores valores de potenciais bioativo, o que torna interessante o estudo futuro dessas moléculas uma vez que inúmeros processos bioquímicos importantes para o controle da homeostasia, bem como o tratamento de doenças envolvem a participação de enzimas no processo (MARQUES; YAMANAKA, 2008).

TABELA 8 – Pontuação de Bioatividade dos compostos de acordo com o software Molinspiration Cheminformatics.

MOLÉCULAS	Ligante GPCR	Modulador Canal Iônico	Inibidor Quinase	Ligante Receptor Nuclear	Inibidor Protease	Inibidor Enzima
Pivô	0,07	-0,25	-0,82	0,92	-0,18	0,41
ZINC34176694	0,07	-0,07	-0,59	1,67	0,90	0,72
ZINC03876158	0,08	-0,25	-0,77	1,55	0,66	0,79
ZINC04097308	0,01	-0,15	-0,60	1,41	0,31	0,61
ZINC03977981	0,09	-0,09	-0,51	1,76	0,84	0,79

Fonte: O autor (2024)

5.6 PREDIÇÃO DE ATIVIDADE BIOLÓGICA

A previsão das atividades biológicas das moléculas selecionadas e da molécula de referência (CPA) foi realizada usando o servidor da web on-line PASS ([//www.pharmaexpert.ru/passonline](http://www.pharmaexpert.ru/passonline)). O PASS utiliza o código smiles das moléculas para determinar os valores de probabilidade de estar ativo (P_a) e probabilidade de estar inativo (P_i). Os valores de P_a e P_i indicam a atividade biológica de um composto (OLIVEIRA; ARRUDA, 2021). As atividades biológicas selecionadas foram aquelas relacionadas de uma forma ou de outra à atividade anticâncer. Prevê-se que a molécula pequena seja altamente ativa experimentalmente se P_a for maior que 0,7, enquanto a faixa de 0,7 a 0,5 prevê atividade moderada e, inferior a 0,5, o efeito biológico é insignificante (MOHAMMED *et al.*, 2022).

A predição das atividades biológicas das quatro moléculas obtidas no processo de triagem apresentaram valores de atividades relacionadas ao câncer (Tabela 9), sendo que a molécula ZINC03876158 apresentou valores de predição para Antagonista de Andrógeno ($P_a=0,993$) superior a molécula pivô ($P_a=0,900$). Vale destacar também a molécula ZINC34176694 que apresentou um valor de $P_a>0,7$ ($P_a=0,710$). As moléculas ZINC04097308 e ZINC03977981 apresentaram valores de $P_a<0,5$ para Antagonista de andrógeno, o que prediz uma atividade biológica mínima (TESSEMA *et al.*, 2023). Porém, como todas as moléculas apresentaram atividade biológica relacionadas ao câncer em especial ao de próstata, mesmo que alguns valores tenham sido inferiores a molécula pivô, elas foram consideradas para a etapa seguinte da pesquisa.

TABELA 9 – Predição de Atividade Biológica.

MOLÉCULAS	Atividade Biológica	Pa	Pi
(CPA) Pivô	Antagonista de andrógeno	0,900	0,002
	Tratamento de distúrbios da próstata	0,736	0,006
	Antineoplásico	0,742	0,019
	Tratamento de hiperplasia prostática (benigna)	0,624	0,004
	Inibidor de expressão AR	0,485	0,029
	Tratamento do câncer de próstata	0,402	0,021
ZINC34176694	Antagonista de andrógeno	0,710	0,003
	Antineoplásico (linfoma não-Hodkin)	0,655	0,008
	Prostate disorders treatment	0,327	0,062
ZINC03876158	Antagonista de Andrógeno	0,993	0,002
	Antineoplásico (linfoma não-Hodkin)	0,647	0,008
	Inibidor de expressão AR	0,599	0,013
	Tratamento de distúrbios da próstata	0,523	0,019
ZINC04097308	Tratamento de distúrbios da próstata	0,485	0,023
	Antagonista de andrógeno	0,450	0,004
	Antineoplásico	0,484	0,077
	Antimetastático	0,440	0,035
	Antineoplásico (linfoma não-Hodkin)	0,427	0,084
	Tratamento de hiperplasia prostática (benigna)	0,365	0,013
	Anticarcinogênico	0,362	0,038
ZINC03977981	Antineoplásico (linfoma não-Hodkin)	0,648	0,008
	Antineoplásico (myeloma múltiplo)	0,391	0,026
	Antimetastático	0,363	0,058
	Antagonista de andrógeno	0,150	0,014
	Tratamento de distúrbios da próstata	0,238	0,118
	Tratamento de hiperplasia prostática (benigna)	0,113	0,061

Fonte: O autor (2024)

5.7 LIPOFILICIDADE E SOLUBILIDADE EM ÁGUA

O servidor SwissADME foi empregado para determinar as características de lipofilicidade e solubilidade em água das moléculas selecionadas. Essas propriedades têm impacto na cinética de atuação dos candidatos a medicamentos, tornando-os cruciais no processo de identificação de novos medicamentos. O coeficiente de partição octanol-água (LogPo/w), que resulta da concentração de uma

molécula em sua forma neutra nas fases orgânica e aquosa, é usado como referência para lipofilicidade (BASTOS *et al.*, 2021; RAMOS *et al.*, 2022). De todas as propriedades físico-químicas medidas e monitoradas em um programa de otimização química a caminho de um candidato a medicamento, a lipofilicidade é a mais importante, pois influencia as interações de ligação ligante-alvo, solubilidade, propriedades de ADME (absorção, distribuição, metabolismo e eliminação), bem como os resultados toxicológicos in vivo e, portanto, a qualidade geral do candidato a medicamento (LINDSLEY, 2014).

Para avaliar o caráter de lipofilicidade em um composto, o servidor SwissADME fornece cinco modelos disponíveis gratuitamente, ou seja, XLOGP3, WLOGP, MLOGP, SILICOS-IT e iLOGP, respectivamente. XLOGP3, utiliza uma abordagem atomística incluindo dois fatores de correção e 87 tipos diferentes de átomos, onde prevê o valor de log P de um composto de consulta usando o valor de log P conhecido de um composto de referência como ponto de partida (CHENG *et al.*, 2007); WLOGP, é um método puramente atomístico baseado em sistema fragmentário (WILDMAN; CRIPPEN, 1999); MLOGP, um modelo de método topológico baseado em uma relação linear com 13 descritores moleculares implementados (MORIGUCHIE *et al.*, 1994); SILICOS-IT, um método híbrido que utiliza 27 fragmentos e 7 descritores topológicos e iLOGP, um método baseado em física que utiliza as energias livres de solvatação do n-octanol e da água calculada pela equação do solvente implícito Generalizada de Born e a área superficial acessível ao solvente (GB/SA) (DAINA; MICHIELIN; ZOETE, 2017).

As quatro estruturas selecionadas e a molécula pivô foram analisadas pelo servidor SwissADME para obter seus valores de lipofilicidade e uma média dos resultados (Tabela 10). Todas as moléculas preditas apresentaram valores abaixo de 5 como é proposto por Lipinski para compostos com lipofilicidade desejável (LIPINSKI *et al.*, 2001), nenhuma das moléculas analisadas apresentou uma média superior a pivô. Os valores obtidos nesses estudos variaram de 1,38 a 4,89 caracterizando como altamente lipofílicas e assim atendendo aos critérios exigidos para candidatos a drogas. Vale destacar as moléculas ZINC03876158, ZINC04097308, ZINC03977981 que apresentaram uma média de Log P dentro do intervalo $0 < \text{LogP} < 3$ o que é considerado uma faixa ótima para uma melhor permeabilidade de um fármaco, onde diversos estudos demonstraram que 99% dos

compostos que exibem mais de 80% de biodisponibilidade oral se enquadram nessa faixa de intervalo (SUMMERFIELD *et al.*, 2007; LINDSLEY, 2014).

TABELA 10 – Previsão de lipofilicidade através do servidor online SwissADME.

MOLÉCULAS	iLOGP	XLOGP	WLOGP	MLOGP	SILICOS-IT	Média LogP
Pivô	3,41	3,64	4,61	3,71	4,51	3,98
ZINC34176694	2,63	3,75	4,89	3,28	4,63	3,84
ZINC03876158	1,48	2,00	3,34	2,45	3,19	2,49
ZINC04097308	3,15	1,38	2,92	1,73	3,03	2,44
ZINC03977981	2,69	2,48	3,21	1,74	3,03	2,63

Fonte: O autor (2024)

A água é um solvente onipresente na química e na vida. Portanto, não é surpresa que a solubilidade em água (Log S) de compostos tenha um papel fundamental em vários domínios, incluindo, entre outros, a descoberta de medicamentos. Ela é uma das propriedades farmacocinéticas mais importante na descoberta de medicamentos, pois afeta a absorção, a biodisponibilidade e a toxicidade dos candidatos a medicamentos (SORKUN; KHETAN; ER, 2019; LEE *et al.*, 2022; RYU *et al.*, 2022). Prever a solubilidade também é essencial para a descoberta de drogas em estágio inicial, pois compostos insolúveis podem não estar disponíveis para ensaios bioquímicos. Por essas razões, a previsão *in silico* de solubilidade tem sido fortemente empregada (RYU *et al.*, 2022).

O servidor online SwissADME fornece três métodos topológicos referentes a solubilidade em água, são eles: o método ESOL (DELANEY, 2004), método Ali (ALI *et al.*, 2012) e o método SILICOS-IT (TAYLOR *et al.*, 2012). Os valores de LogS das moléculas para o método ESOL variaram entre -4,88 e -3,28, para o método Ali entre -5,14 e -2,94 e para o método SILICO-IT entre -5,00 e -3,37 (Tabela 11). A molécula ZINC34176694 apresentou uma solubilidade moderada (Média LogS - 5,01), pois os valores de LogS estão entre -4 e -6, o que sugere que sua solubilização em água só é possível com solventes orgânicos, assim como a molécula pivô (Média LogS -4,63) (LIMA *et al.*, 2022). As moléculas ZINC03876158, ZINC04097308, ZINC03977981 apresentam uma boa solubilidade em função dos valores da média de LogS estarem no intervalo de -2 a -4, demonstrando que essas moléculas são teoricamente solúveis em fluidos biológicos pelos valores

apresentados de solubilidade (LogS > -5) (ALI *et al.*, 2012). Esses dados são fundamentais para futuros ensaios in vitro, visando validar os métodos computacionais abordados nesse estudo (FERREIRA *et al.*, 2019).

TABELA 11 – Previsão de solubilidade em água (LogS) através do servidor online SwissADME*.

MOLÉCULAS	ESOL	Ali	SILICOS-TI	Média LogS
Pivô	-4,52 (ms)	-4,60 (ms)	-4,78 (ms)	-4,63 (ms)
ZINC34176694	-4,88 (ms)	-5,14 (ms)	-5,00 (ms)	-5,01 (ms)
ZINC03876158	-3,37 (s)	-3,19 (s)	-3,37 (s)	-3,31 (s)
ZINC04097308	-3,28 (s)	-2,94 (s)	-3,48 (s)	-3,23 (s)
ZINC03977981	-4,08 (ms)	-4,08 (ms)	-3,49 (s)	-3,88 (s)

* Solubilidade (s = Solúvel, ms = Moderadamente solúvel, ps = Pouco solúvel)
Fonte: O autor (2024)

5.8 SIMULAÇÕES DE DINÂMICA MOLECULAR

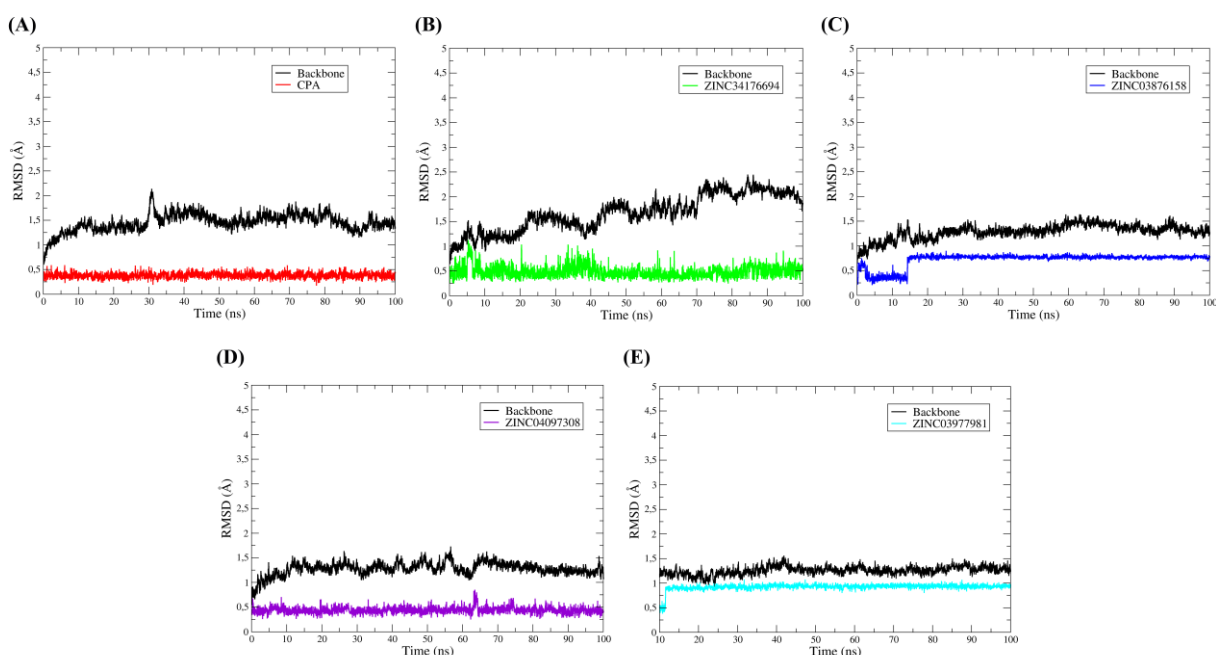
Os valores de RMSD (Figura 23) ao longo de 100ns indicam estabilidade estrutural significativa para todos os ligantes estudados, incluindo o composto pivô CPA e os compostos ZINC34176694, ZINC03876158, ZINC04097308 e ZINC03977981. A ausência de desvios notáveis reforça que os ligantes permaneceram adequadamente ancorados no sítio ativo do receptor androgênico. Esta estabilidade conformacional sugere que os ligantes possuem conformações energeticamente favoráveis, confirmando a solidez das interações entre proteína-ligante e a capacidade dos compostos em manter interações estáveis durante o período de simulação.

Os resultados da dinâmica molecular complementam os dados de docking molecular e MMGBSA. Compostos como ZINC34176694 e ZINC03876158 apresentaram interações hidrofóbicas e de van der Waals particularmente destacadas, desempenhando papel fundamental na estabilidade do complexo proteína-ligante. Por outro lado, a forte contribuição eletrostática em compostos como ZINC03977981 e ZINC03876158 reforça o papel dessas interações na ancoragem e estabilidade das moléculas no sítio ativo.

A análise das interações específicas com resíduos-chave (ASN705, ARG752 e MET780) evidencia a importância de determinados aminoácidos no reconhecimento e na estabilização dos ligantes, o que pode servir como ponto de partida para modificações estruturais futuras nos compostos.

A estabilidade destas interações indica que estes compostos são promissores para futuras investigações como moduladores de receptores androgênicos.

Figura 23 – Análise da estabilidade conformacional dos sistemas ao longo de 100ns de simulação DM. A espinha dorsal da proteína é representada em preto em todos os gráficos, enquanto as cores para representar os ligantes variam. Os gráficos RMSD foram construídos em relação aos sistemas obtidos após as etapas de minimização, aquecimento e equilíbrio. (a) AR-CPA, (b) AR-ZINC34176694, (c) AR-ZINC03876158, (d) AR-ZINC04097308 e (e) AR-ZINC03977981.



5.8.1 Energia livre de ligação MM/GBSA

Os valores de $\Delta G_{MM-GBSA}$ apresentados na Tabela 12 corroboram os resultados obtidos na dinâmica molecular, destacando a molécula ZINC34176694 como a mais promissora, com a maior afinidade de ligação (-56,42 kcal/mol). Isto reforça os resultados de docking molecular, onde ZINC34176694 também demonstrou a maior afinidade de ligação (-10,850 kcal/mol). Além disso, apresentou a maior contribuição de van der Waals ($\Delta E_{vdW} = -61,75$ kcal/mol), superando o

composto pivô CPA ($\Delta E_{vdW} = -57,89$ kcal/mol). Essa contribuição significativa indica que interações hidrofóbicas desempenham papel central em sua estabilidade no sítio ativo.

Tabela 12 – Valores de energia de afinidade (valores em kcal/mol). ΔE_{vdW} , contribuições das interações de van der Waals; ΔE_{ele} , energia eletrostática; ΔG_{GB} , energia de solvatação polar; ΔG_{NP} , energia de solvatação apolar; ΔG_{bind} , afinidade de ligação.

Moléculas	ΔE_{vdW}	ΔE_{ele}	ΔG_{GB}	ΔG_{NP}	$\Delta G_{MM-GBSA}$
CPA	-57,89	-10,74	21,57	-7,01	-54,08
ZINC34176694	-61,75	-21,79	35,03	-7,91	-56,42
ZINC03876158	-53,85	-27,30	35,64	-6,80	-52,31
ZINC04097308	-58,39	-16,43	30,60	-7,61	-51,83
ZINC03977981	-57,24	-30,28	41,54	-7,52	-53,51

A molécula ZINC03977981, que apresentou 100% de similaridade nas interações dos resíduos de aminoácidos com o CPA, apresentou $\Delta G_{MM-GBSA}$ de -53,51 kcal/mol, valor próximo ao da molécula pivô (-54,08 kcal/mol). No entanto, a contribuição eletrostática (ΔE_{ele}) para ZINC03977981 foi substancialmente mais negativa (-30,28 kcal/mol), sugerindo que suas interações eletrostáticas desempenham um papel crucial na estabilidade da ligação.

Por outro lado, ZINC03876158, que também demonstrou bons resultados de docking, destacou-se pela sua contribuição eletrostática (-27,30 kcal/mol), o que se correlaciona com a interação do hidrogênio observada com o resíduo MET780, essencial para a estabilidade do complexo.

A molécula ZINC04097308, embora tenha apresentado $\Delta G_{MM-GBSA}$ de -51,83 kcal/mol, menor que os demais, suas interações hidrofóbicas e de van der Waals foram consistentes, mantendo estabilidade suficiente no sítio ativo.

A presença de interações hidrofóbicas em todos os compostos é consistente com os resultados de docking que indicam interações com os mesmos aminoácidos principais (LEU701, LEU704, MET780, PHE876), demonstrando que as interações hidrofóbicas são cruciais para a estabilidade de ligação no sítio ativo.

Os resultados apresentados refletem uma investigação robusta baseada em métodos de dinâmica molecular, docking molecular e cálculos de energia livre de

ligação (MMGBSA), fornecendo evidências convincentes sobre o potencial dos compostos estudados como moduladores do receptor androgênico (AR).

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nos resultados teóricos obtidos por meio de análises computacionais das propriedades farmacocinéticas (ADME), toxicológicas, docking molecular, viabilidade sintética, características moleculares, bioatividade, atividade biológica, lipofilicidade, solubilidade e dinâmica molecular, concluiu-se que as moléculas ZINC34176694, ZINC03876158, ZINC04097308 e ZINC03977981 apresentaram desempenhos satisfatórios que permitem prosseguir nos estudos de desenvolvimento como candidatos a novos fármacos moduladores de receptores androgênicos.

Nenhuma das moléculas selecionadas apresentou violação às regras de Lipinski. Esses resultados teóricos predizem que os compostos poderão ser administrados por via oral.

Depois de todas as avaliações do estudo, é importante salientar que a molécula ZINC34176694 se apresenta como potencial líder na série, devido à melhor afinidade de ligação e estabilidade ao longo da simulação. No caso, da molécula ZINC03876158 ela se destaca como uma alternativa interessante com interações eletrostáticas fortes que podem ser otimizadas para melhorar a afinidade de ligação. Portanto, as moléculas ZINC34176694 e ZINC03876158 emergem como as mais promissoras, equilibrando interações hidrofóbicas e eletrostáticas de maneira eficiente. As moléculas ZINC04097308 e ZINC03977981 também apresentam características favoráveis, especialmente devido às interações eletrostáticas.

Estudos futuros para avaliação experimental *in vitro* são necessários para validar a eficácia biológica e farmacocinética das moléculas selecionadas. Realização de estudos adicionais de dinâmica molecular em condições variadas (ex.: pH, força iônica) para refinar os modelos. Modificações estruturais nos compostos líderes para otimizar o equilíbrio entre hidrofobicidade e eletrostática, visando aumentar a seletividade e potência.

Essa análise reforça o potencial da triagem virtual realizada e orienta os próximos passos para o desenvolvimento de novos fármacos.

- ADEGBOYEGA, A. E.; JOHNSON, T. O.; OMALE, S. Computational modeling of the pharmacological actions of some antiviral agents against SARS-CoV-2. **Data Science for COVID-19**. p.467–82, 2021.
- AHMED, H.; BERGMANN, F.; ZEITLINGER, M. Protein Binding in Translational Antimicrobial Development-Focus on Interspecies Differences. **Antibiotics** (Basel),v.11, p.1-17. 2022.
- ANDERSON, J. The role of antiandrogen monotherapy in the treatment of prostate câncer. **BJU International**, v.91, p.455-461, 2003.
- ALENCAR, W. L. M. et al. Interactions of Co, Cu, and non-metal phthalocyanines with external structures of SARS-CoV-2 using docking and molecular dynamics. **Scientific Reports**, v.12, p.1-20, 2022.
- ALI, J. et al. Revisiting the general solubility equation: In silico prediction of aqueous solubility incorporating the effect of topographical polar surface area. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 52, n. 2, p. 420–428, 2012.
- ALVES, M. F. V. et al. Analysis of pharmacological and toxicological activity of monoterpene borneol with dental purpose: A Study in silic. **Brazilian Journal of Surgery and Clinical research - BJSCR**, v.27, n.3, p.12-17, 2019.
- AMARAL, R. G. et al. Natural Products as Treatment against Cancer: A Historical and Current Vision. *Clin Oncology*, v.4, 2014.
- ANASTASSAKIS, Konstantinos. Cyproterone Acetate (CPA). In: **Androgenetic Alopecia From A to Z**. Springer, Cham, 2022, p.115-120.
- ANGUS, L. M. et al. A Systematic review of anti-androgens and feminisation in transgender women. **Clinical Endocrinology**, v.94, n.5 p.743-752, 2020.
- AZEEM, W. et al. An androgen response element driven reporter assay for the detection of androgen receptor activity in prostate cells. **PLoS ONE**, v.12, n.6, p.1-20, 2017.
- BAHMAD, H. F. et al. Overcoming Drug Resistance in Advanced Prostate Cancer by Drug Repurposing. **Medical Sciences**, v.10, n.15, p.1-36, 2022.
- BANERJEE, P. et al. ProTox-II: A webserver for the prediction of toxicity of chemicals. **Nucleic Acids Research**, v.46, n.1, p.257–263, 2018.
- BARRADELL, L. B, FAULDS, D. Cyproterone. **Drugs & Aging**, v.5, p.59–80, 1994.
- BASAK, D. et al. Preclinical and Clinical Research Models of Prostate Cancer: A Brief Overview. **Life**, v.12, p.2-18, 2022.

BASTOS, R. S. et al. Design and Identification of Inhibitors for the Spike-ACE2 Target of SARS-CoV-2. **International Journal of Molecular Sciences**, v.24, p.1-35, 2023.

BERGLUND, R.K. Radical prostatectomy as primary treatment modality for locally advanced prostate cancer: a prospective analysis. **Urology**, New York, v.67, n.6, p.1253–1256, 2006.

BOHL, C. E. et al. Crystal structure of the T877A human androgen receptor ligand-binding domain complexed to cyproterone acetate provides insight for ligand-induced conformational changes and structure-based drug design. **Journal of Biological Chemistry**, v. 282, n. 18, p. 13648–13655, 2007.

BORGES, N.C. et al. Cyproterone acetate quantification in human plasma by high-performance liquid chromatography coupled to atmospheric pressure photoionization tandem mass spectrometry. Application to a comparative pharmacokinetics study. **Arzneimittelforschung Drug Research**, v.59, n.7, p.335-344, 2009.

BORGES, N. M. et al. Similarity search combined with docking and molecular dynamics for novel hAChE inhibitor scaffolds. **Journal of Molecular Modeling**, v.24, 2018.

BRAY, F. et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **CA: A Cancer Journal of Clinicians**, v.21, p.209-249, 2021.

BURINKUL, S. et al. Anti-Androgenic Effects Comparison Between Cyproterone Acetate and Spironolactone in Transgender Women: A Randomized Controlled Trial. **The Journal of Sexual Medicine**, v.18, p.1299-1307, 2021.

BUSKING, A. et al. A Review of Prostate Organogenesis and a Role for iPSC-Derived Prostate Organoids to Study Prostate Development and Disease. **International Journal of Molecular Sciences**. 2021, v.22, n.23, p.1-21, 2021.

CABALLERO, J. The latest automated docking technologies for novel drug discovery. **Expert Opinion on Drug Discovery**, v.16, p.625-645, 2021.

CASE, D.A. et al. The Amber Biomolecular Simulation Programs. **J. Comput. Chem.** 2005, 26, 1668–1688, doi:10.1002/jcc.20290.

CRUZ, J. V. et al. Identification of novel potential cyclooxygenase-2 inhibitors using ligand- and structure-based virtual screening approaches. **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics**, 40:12, 5386-5408, 2020.

DA SILVA ROCHA, S.F.L., *et al.* Virtual Screening Techniques in Drug Discovery: Review and Recent Applications. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v.19, n.19, p.1751–1767, 2019.

D'AMICO, A. V. et al. Biochemical outcome after radical prostatectomy, external beam radiation therapy, or interstitial radiation therapy for clinically localized prostate cancer. **Journal of the American Medical Association**, v.280, n.11, p.969–974, 1998.

DAINA, A.; MICHIELIN, O.; ZOETE, V. SwissADME: A free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. **Scientific Reports**, v.7, n.1, p.1–13, 2017.

DANAO, K. et al. 'Molecular Docking: Metamorphosis in Drug Discovery'. **Biomedical Engineering, IntechOpen**, p.1-25, 2023.

DARDEN, T.; YORK, D.; PEDERSEN, L. Particle Mesh Ewald: An $N \cdot \log(N)$ Method for Ewald Sums in Large Systems. **J. Chem. Phys.** 1993, 98, 10089–10092, doi:10.1063/1.464397.

DELANEY, J. S. ESOL: Estimating aqueous solubility directly from molecular structure. **Journal of Chemical Information and Computer Sciences**, v.44, n.3, p.1000–1005, 2004.

DINI, L. I.; KOFF, W. J. Perfil do câncer de próstata no hospital de clínicas de Porto Alegre. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v.52, n.1, 2006.

DINIZ, W. J. S. CANDURI, F. Bioinformatics: an overview and its applications. **Genetics and Molecular Research**, v.16, p.1-21, 2017.

DOLINSKY, T.J. et al. PDB2PQR: An automated pipeline for the setup of Poisson-Boltzmann electrostatics calculations. **Nucleic Acids Research**, v.32, p.665–667, 2004.

EFTEKHARZADEH, B. et al. Hsp70 and Hsp40 inhibit an inter-domain interaction necessary for transcriptional activity in the androgen receptor. **Nature Communications**. v.10, p.1-14, 2019.

FAGERBERG, I. et al. Analysis of the human tissue-specific expression by genome-wide integration of transcriptomics and antibody-based proteomics. **Molecular & Cellular Proteomics**, v.13, n.2, p.397-406, 2014.

FARES, J. et al. Molecular principles of metastasis: a hallmark of cancer revisited. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, v.5, n.28, p.134-, 2020.

FENG, Q. HE, B. Androgen Receptor Signaling in the Development of Castration-Resistant Prostate Cancer. **Frontiers in Endocrinology**, v.9, p.1-10, 2019.

FERREIRA, E. F. B et al. Identification of New Inhibitors with Potential Antitumor Activity from Polypeptide Structures via Hierarchical Virtual Screening. **Molecules**, v.24, p.1-18, 2019.

FUJITA, K.; NONOMURA, N. Role of Androgen Receptor in Prostate Cancer: A Review. **The World Journal of Men's Health**, v.37, p.288-295, 2019.

GARG, S. Prediction of Biological Activity for a newly Designed Fluoroquinolone C-5 morpholine substituted norfloxacin derivative. **International Journal of Research and Analytical Reviews**, v.8, n.2, p. p.255-262, 2021.

GATENBY, R.; BROWN, J. The Evolution and Ecology of Resistance in Cancer Therapy. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, v.10, n.11, p.1-18, 2020.

GHEORGHE, G. S. et al. Androgen Deprivation Therapy, Hypogonadism and Cardiovascular Toxicity in Men with Advanced Prostate Cancer. **Current Oncology**, v.28, p.3331–3346, 2021.

GILLATT, D. Antiandrogen treatments in locally advanced prostate cancer: are they all the same? **Journal of Cancer Research and Clinical Oncology**, v.132, p.17-26. 2006.

GIMENO, A. et al. The Light and Dark Sides of Virtual Screening: What Is There to Know? **International Journal of Molecular Sciences**, v.20, p.1-24, 2019.

GLOBOCAN. **Prostate Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide. Available.** Disponivel: <http://globocan.iarc.fr/Pages/online.aspx>. Acessado dia 15 de outubro de 2021.

GOMES, R. et al. As arranhaduras da masculinidade: uma discussão sobre o toque retal como medida de prevenção do câncer prostático. **Ciência e Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 13, n. 6, Dec. 2008.

GONCALVES, I.R.; PADOVANI, C.; POPIM, R.C. Caracterização epidemiológica e demográfica de homens com câncer de próstata. **Ciência e saúde coletiva**, v. 13, n.4, 2008.

GONGOLA, S. Anti-Cancer Stem-Cell-Targeted Therapies in Prostate Cancer. **Cancers**, v.15, p.1-23, 2023.

GRÖNBERG, H. Prostate cancer epidemiology. **The Lancet**, v.361, n.2, p.859–864, 2003.

GROSSMMAN, M. et al. Androgens and prostate cancer; pathogenesis and deprivation therapy. **Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism**, p.1–14, 2013.

GUEDES, I. A., et al. Drug design and repurposing with DockThor-VS web server focusing on SARS-CoV-2 therapeutic targets and their non-synonym variants. **Nature Scientific Reports**, n.11 (5543), 2021.

GUIDO, R.V.C.; OLIVA, G.; ANDRICOPULO, A. D. Structure-and ligand-based drug design approaches for neglected tropical diseases. **Pure and Applied Chemistry**, v.84, n.9, p.1857–1966, 2012.

GUNDEM, G. et al. The evolutionary history of lethal metastatic prostate cancer. **Nature**, v.520, p.353-357, 2015.

GUO, C. et al. Targeting Androgen Receptor versus Targeting Androgens to suppress Castration Resistant Prostate Cancer. **Cancer Letters**, v.17, p.1-25, 2017.

HAFFNER, M. C. et al. Genomic and phenotypic heterogeneity in prostate cancer. **Nature Reviews Urology**, v.18, p.79-92, 2020.

HANSER, T. et al. Avoiding hERG-liability in drug design via synergetic combinations of different (Q)SAR methodologies and data sources: A case study in an industrial setting. **Journal of Cheminformatics**, v.11, n.9, 2019.

HASHINE, K. et al. Patient-reported outcomes after robot-assisted radical prostatectomy and institutional learning curve for functional outcomes. **Urology Annals**, v.15, p.60-67, 2023.

HEIDENREICH, A. et al. EAU guidelines on prostate cancer. Part 1: Screening, diagnosis, and treatment of clinically localised disease. **European Urology**, v.59, n.1, p.61–71, 2011.

HOFFMAN, K. E. et al. Physician Variation in Management of low-Risk Prostate Cancer. **Jama Internal Medicine**, v.174, n.9, p.1450-1459, 2014.

IBRAHIM, H. TEMERK, Y. A novel disposable electrochemical sensor based on modifying graphite pencil lead electrode surface with nanoacetylene black for simultaneous determination of antiandrogens flutamide and cyproterone acetate. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v.859, p.1-11, 2020.

ILANGO, S. Epigenetic alterations in cancer. **Frontiers in Bioscience**, v.25, n.6, p.1058–1109, 2020.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA. **Incidência de Câncer no Brasil: Estimativa triênio 2020-2022**. INCA, Rio de Janeiro, 2019. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/tipos-de-cancer>. Acesso em: 8 set. 2021.

IRWIN, J. J. et al. ZINC20–A Free Ultralarge-Scale Chemical Database for Ligand Discovery. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v.60, p.6065–6073, 2020.

JENTZMIK, F. Androgen receptor aberrations in the era of abiraterone and enzalutamide. **World Journal of Urology**, v.34, p.297-303, 2016.

JKHAR, R., et al. Relevance of Molecular Docking Studies in Drug Designing. **Current Bioinformatics**, v.15, n.14, p.270-278, 2020.

JORGENSEN, W.L. et al. Comparison of Simple Potential Functions for Simulating Liquid Water. **J. Chem. Phys.** 1983, 79, 926–935, doi:10.1063/1.445869.

KAYIGIL, Ö.; ATAHAN, Ö.; METIN, A. Cyproterone acetate monotherapy in advanced prostatic carcinoma. **International Urology and Nephrology**, v.29, n.2, p.213–220, 1997.

KARKI, P. ORMAN, M. Cancer Persists: How Playing dead Helps Cancer Cells Survive treatment. **Frontiers**, v.8, p.1-6, 2020.

KESCH, C. et al. Radical Prostatectomy: Sequelae in the Course of Time. **Frontiers in Surgery**, v.8, p.1-7, 2021.

KIM, M. et al. Screening and Evaluation of Natural Product Derivative Library for Anticancer Activity in Human Prostate Cancer Cells. **The FASEB Journal**. v.35, 2021.

KOCHEV, Nikolay; JELIAZKOVA, Nina; TSAKOVSKA, Ivanka. Chemoinformatics Representation of Chemical Structures—A Milestone for Successful Big Data Modelling in Predictive Toxicology. **Big Data in Predictive Toxicology**. 2019. p. 69-107.

LEÃO, R.P. et al. Identification of new rofecoxib-based cyclooxygenase-2 inhibitors: A bioinformatics approach. **Pharmaceuticals**, v.13, n.9, p.1–26, 2020.

LEE, S. et al. Novel Solubility Prediction Models: Molecular Fingerprints and Physicochemical Features vs Graph Convolutional Neural Networks. **American Chemical Society**, v.7, p.12268-12277, 2022.

LEELANANDA, S. P.; LINDERT, S. Computational methods in drug discovery. **Beilstein Journal of Organic Chemistry**, v.12, p.2694-2718, 2016.

LEUNG, J. K. SADAR, M. D. Non-Genomic Actions of the Androgen Receptor in Prostate Cancer. **Frontiers in Endocrinology**, v.8, p.1-8, 2017.

LIMA, L. R, et al. Identification of Potential New Aedes aegypti Juvenile Hormone Inhibitors from N-Acyl Piperidine Derivatives: A Bioinformatics Approach. **Int. J. Mol. Sci**, v.23, p.1-29. 2022.

LIN, X. LI, X. LIN, X. A Review on Applications of Computational Methods in Drug Screening and Design. **Molecules**, v.25, p.1-17, 2020.

LINDSLEY, C. W. Lipophilicity. Encyclopedia of Psychopharmacology. Springer, Berlin, Heidelberg, p.1-6, 2014.

LIPINSKI, C. A., et al. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. **Advanced Drug Delivery Reviews**.v.23, p.3-26, 1997.

LIPINSKI, C. A. et al. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. **Advanced Drug delivery Reviews**, v.46, p.3-26, 2001.

LO, Y. C. et al. Machine learning in chemoinformatics and drug discovery. **Drug Discovery Today**. v.23, n.8, p. 1538-1546, 2018.

LU, Ting-Cheng et al. DockingShop: A Tool for Interactive Molecular Docking. Ernest Orlando Lawrence Berkeley National Laboratory, Berkeley, CA (US), 2005.

MARQUES, P. R. B.O., YAMANAKA, H. Biossensores baseados no processo de inibição enzimática. **Química Nova**, v.31, n.7, p.1791-1799, 2008.

LZAGUIRRE, J.A. et al. Langevin Stabilization of Molecular Dynamics. **J. Chem. Phys.** 2001, 114, 2090–2098, doi:10.1063/1.1332996.

MAIER, J.A. et al. Ff14SB: Improving the Accuracy of Protein Side Chain and Backbone Parameters from Ff99SB. **J. Chem. Theory Comput.** 2015, 11, 3696–3713, doi:10.1021/acs.jctc.5b00255.

MISHRA, A. K. et al. Computational Analysis of Pharmacokinetic, Bioactivity and Toxicity Parameters of Some Selected Oral-hypoglycaemic Agents. **Chemistry Research Journal**, v.3, n.2, p.135–140, 2018.

MOHAMMED, A.E. et al. Limoniastrum monopetalum–Mediated Nanoparticles and Biomedicines: In Silico Study and Molecular Prediction of Biomolecules. **Molecules**, v.27, 2022.

MORI, K. et al. Apalutamide, enzalutamide, and darolutamide for non-metastatic castration-resistant prostate cancer: a systematic review and network meta-analysis. **International Journal of Clinical Oncology**, v.25, p.1892–1900, 2020.

MORIGUCHI, I. et al. Comparasion of Reliability of log P for Drugs Calculated by Several Methods. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v.42, n.4, p.976-978, 1999.

MORTIER, J. et al. The impact of molecular dynamics on drug design: Applications for the characterization of ligand-macromolecule complexes. **Drug Discovery Today**, 2015.

MOTTET, N. et al. EAU-ESTRO-SIOG Guidelines on Prostate Cancer. Part 1: Screening, Diagnosis, and Local Treatment with Curative Intent. **European Urology**, v.71, n.4, p.619-629, 2017.

MUCCI, L. A. Nordic Twin Study of Cancer (NorTwinCan) Collaboration. Familial Risk and Heritability of Cancer Among Twins in Nordic Countries. **JAMA**, v.5, p.68-76, 2016.

MUCHMORE, S.W.; SOUERS, A.J.; AKRITPOULOU-ZANZE, I. The use of three-dimensional shape and electrostatic similarity searching in the identification of a melanin-concentrating hormone receptor 1 antagonist. **Chemical Biology & Drug Design**. 2006, v.67, p.174–176, 2006.

MUHAMMAD, S. et al. A threefold approach including quantum chemical, molecular docking and molecular dynamic studies to explore the natural compounds from

Centaurea jacea as the potential inhibitors for COVID-19. **Brazilian Journal of Biology**, v. 83, 2021.

MURAD, H. A. S. et al. Interactions of selected cardiovascular active natural compounds with CXCR4 and CXCR7 receptors: a molecular docking, molecular dynamics, and pharmacokinetic/toxicity prediction study. **BMC Complement Med Ther**. v.22, p.1-22, 2022.

MIYAMOTO, M. et al. Characterization of plasma protein binding in two mouse models of humanized liver, PXB mouse and humanized TK-NOG mouse. **Xenobiotica**. v.51, p.51–60, 2021.

NAQVI, A. A. T. et al. Advancements in Docking and Molecular Dynamics Simulations Towards Ligand-receptor Interactions and Structure-function Relationships. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v.18, n.20, p.1755–1768, 2018.

NAMBA, A. M.; DA SILVA, V. B.; DA SILVA, C. H. T. P. Dinâmica molecular: Teoria e aplicações em planejamento de fármacos. *Ecletica Quimica*, v. 33, n. 4, p. 13–24, 2008.

NATH, A., et al. Investigating the binding affinity, molecular dynamics, and ADMET properties of 2,3-dihydrobenzofuran derivatives as an inhibitor of fungi, bacteria, and virus protein. **Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences**, v.10, n.36, p.1-13, 2021.

OLIVEIRA, N. S.; ARRUDA, E. L. In silico Studies on the anticancerogenic activities of Eugenol in the Indian Carnation (*Syzygium aromaticum*). **Research, Society and Development**, v.10, n. 4, p.1-9, 2021.

PATEL, L. et al. Machine Learning Methods in Drug Discovery. **Molecules**, v.20, p.1-17, 2020.

PELLEGATTI, M. et al. Plasma protein binding and blood-free concentrations: which studies are needed to develop a drug? **Expert Opin. Drug Metab. Toxicol**, v.7, p.1009–1020, 2011.

PICCIRILO, E. AMARAL, A. T. Busca virtual de compostos bioativos: conceitos e aplicações. **Química Nova**, v.41, n.6, p.662-677, 2018.

PIOTROWSKI, Z. GREENBERG, R. E. Antiandrogen Monotherapy in the Treatment of Prostate Cancer. In: **Advanced prostat e câncer**. Department of Urology, Fox Chase Cancer Center, and Temple University School of Medicine, Philadelphia, PA, USA. Chapter 5, p.515-521, 2016.

RAJARAM, P. et al. Second-Generation Androgen Receptor Antagonists as Hormonal Therapeutics for Three Forms of Prostate Cancer. **Molecules**, v.25, p.1-27, 2020.

RAMÍREZ, D. CABALLERO, J. Is It Reliable to Take the Molecular Docking Top Scoring Position as the Best Solution without Considering Available Structural Data ? **Molecules**, v.23, n.5, p.1–17, 2018.

RAMOS, R.S. et al. Potential inhibitors of the enzyme acetylcholinesterase and juvenile hormone with insecticidal activity: study of the binding mode via docking and molecular dynamics simulations. **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics**, v.38, n.16, p.4687–4709, 2019.

RAMOS, R. S. et al. Identification of Potential Antiviral Inhibitors from Hydroxychloroquine and 1,2,4,5-Tetraoxanes Analogues and Investigation of the Mechanism of Action in SARS-CoV-2. **International Journal of Molecular Sciences**, v.23, p.1-25, 2022.

RANI, I. et al. Artificial Intelligence and machine Learning-Based New Drug Discovery Process with Molecular Modeling. **Bioinformatics Tools for Pharmaceutical Drug Product development**, Chapter 2, p.19-35, 2023.

RAVIKUMAR, C., et al. Computer Aided Drug Design of 1,2,3-Triazole Fused Bioactive Derivative Targeting Glucosamine-6-Phosphate Synthase (GlmS) – XRD, Computational Crystallography, and Molecular Simulation Approach. **Polycyclic Aromatic Compounds**, v.43, n.4, p.3223-3239, 2022.

RAWLA, P. Epidemiology of Prostate Cancer. **World Journal of Oncology**, v.10, n.2, p.63-89, 2019.

REBELLO, R. J. et al. Prostate cancer. **Nature Reviews Disease Primers**. v.7, n.17, p.1-27, 2021.

RODRIGUES, R.P. et al. Virtual screening strategies in drug design. **Revista Virtual de Quimica**, v.4, n.6, p.739–776, 2012.

RYCKAERT, J.P.; CICCOTTI, G.; BERENDSEN, H.J.C. Numerical Integration of the Cartesian Equations of Motion of a System with Constraints: Molecular Dynamics of n-Alkanes. **J. Comput. Phys.** 1977, 23, 327–341, doi:10.1016/0021-9991(77)90098-5.

RYU, S. et al. Antifungal Activity of Angelica gigas with Enhanced Water Solubility of Decursin and Decursinol Angelate by Hot-Melt Extrusion Technology against Candida albicans. **International Journal of Translational Medicine**, v.2, p.515-521, 2022.

SADAR, M.D. Advances in small molecule inhibitors of androgen receptor for the treatment of advanced prostate cancer. **World Journal of Urology**, v.30, n.3, p.311–318, 2012.

SANTOS, K. B., et al. Highly Ligand Docking: Benchmarking of the DockThor Program on the LEADS-PEP Protein-Peptide Data Set. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v.60, n.2, p. 667-683, 2020.

SEPAY, N. et al. In silico fight against novel coronavirus by finding chromone derivatives as inhibitor of coronavirus main proteases enzyme. **Structural Chemistry**, v.31, n.5, p.1831–1840, 2020.

SHAFI, A. A. YEN, A. E, WEIGEL, N. L. Androgen receptor in hormone-dependent and castration-resistant prostate cancer. **Pharmacol & Therapeutics**, v.140, n.3, p.223-238, 2013.

SHAH, S. et al. Sensitive Inexpensive HPLC-UV Method for Estimation of Cyproterone Acetate in Pharmaceuticals. **Latin American Journal of Pharmacy**, v.40, n.4, p.808-812, 2021.

SIEGEL, R.L. et al. Cancer statistics, 2023. **CA: A Cancer Journal of Clinicians**, v.73, n.1, p.17-48, 2023.

SILVA, R.C. et al. Ligand- And structure-based virtual screening of 16-((diisobutylamino)methyl)-6 α -hydroxyvouacapane-7 β ,17 β -lactone, a compound with potential anti-prostate cancer activity. **Journal of the Serbian Chemical Society**, v.84, n.2, p.153–174, 2019.

SONG, C. M. LIM, S. J. TONG, J. C. Recent advances in computer-aided drug design. **Briefings in Bioinformatics**, v.10, n.5, p.579-591, 2009.

SORKUN, M. C., KHETAN, A., ER, S. AqSolDB, a curated reference set of aqueous solubility and 2D descriptors for a diverse set of compounds. **Scientific Data**. v.6, n.143, p.1-8, 2019.

SRIVASTAVA, S. S. et al. In Silico Profiling of the Potentiality of Curcumin and Conventional Drugs for CagA Oncoprotein Inactivation. **Arch Pharm Chemistry in Life Sciences**, v.348, n.8, p.548–555, 2015.

STANZIONE, F., GIANGRECO, I., COLE, J. C. Use of molecular docking computational tools in drug discovery – Chapter Four. **Progress in Medicinal Chemistry**, v.60, p. 273-343, 2021.

SUMIYOSHI, T., CHI, K. N, WYATT, A. W. et al., Clinical implications of genomic alterations in metastatic prostate cancer. **Prostate Cancer and Prostatic Diseases**, v.24, n.2, p.310-322, 2021.

SUMMERFIELD, S. G. et al. Central nervous system drug disposition: the relationship between in situ brain permeability and brain free fraction. **The Journal of Pharmacology and Experimental therapeutics**, v.322, n.1, p.205-2013, 2007.

SUN, J. et al. ExCAPE-DB: an integrated large scale dataset facilitating Big Data analysis in chemogenomics. **Journal of cheminformatics**, v.9, n.1, p. 1-9, 2017.

SUNG, H. et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. **A Cancer Journal for Clinicians**, v.71, n.3, p.209-249, 2021.

STEWART, B.W.; WILD, C.P. **World cancer report 2014**. Lyon: IARC Press, 2014. 1010 p. Disponível em: <https://publications.iarc.fr/Non-Series-Publications/World-Cancer-Reports/World-Cancer-Report-2014>.

TAN, M.E. et al. Androgen receptor: Structure, role in prostate cancer and drug discovery. **Acta Pharmacologica Sinica**, v.36, n.1, p.3–23, 2015.

TAN, S. P. et al. Hormonal Therapeutics Enzalutamide and Abiraterone Acetate in the Treatment of Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer (mCRPC) Post-docetaxel-an Indirect comparison. **Clinical medicine Insights: Oncology**, v.8, 2014.

TAYLOR, Robin et al. Development and validation of an improved algorithm for overlaying flexible molecules. **Journal of Computer-Aided Molecular Design**, v.26, n.4, p.451-472, 2012.

TESSEMA, F. B et al. Antioxidant Activity of Flavonoids and Phenolic Acids from *Dodonaea angustifolia* Flower: HPLC Profile and PASS Prediction. **Journal of Chemistry**, vol. 2023, p.1-11, 2023.

THIBAUT, U. Bioinformatics and Rational Drug Design: Tools for Discovery and Better Understanding of Biological Targets and Mode of Action of Drugs. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, v.37, n.236, p.95-99, 2009.

TORRES, P. H. M., et al. Key Topics in Molecular Docking for Drug Design. **International Journal of Molecular Sciences**. v.20, n.18, p.1-29, 2019.

TORTORELLA, E. et al. AR and PI3K/AKT in Prostate Cancer: A Tale of Two Interconnected Pathways. **International Journal of Molecular Sciences**, v.24, p.1-18, 2023.

UPADHYAYA, S. R. et al. Biochemical Analysis and Human Aldose Reductase Inhibition Activity of Selected Medicinal Plants of Nepal. **Journal of Chemistry**, v.2023, p.1-14, 2023.

URABE, F. et al. Prognostic value of PSA bounce in prostate cancer following definitive radiation therapy: a systematic review and meta-analysis. **Prostate Cancer and Prostatic Diseases**, v. 24, p.976-985, 2021.

VARIKOTI, R. A. et al. Integrated data-driven and experimental approaches to accelerate lead optimization targeting SARS-CoV-2 main protease. **Journal of Computer Aided Molecular Design**, v.37, n.8, p.339-335, 2023.

VOOGT, H. J. The Position of Cyproterone Acetate (CPA), a Steroidal Anti-Androgen, in the Treatment of Prostate Cancer. **The Prostate Supplement**, v. 4, p. 91-95, 1992.

XIA, Xurua. Bioinformatics and Drug Discovery. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v.17, p. 1709-1726, 2017.

WALTERS, W. P.; WANG, R. New trends in virtual screening. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v.60, n.9, p.4109–4111, 2020.

WANG, J. et al. Development and Testing of a General Amber Force Field. **J. Comput. Chem.** 2004, 25, 1157–1174, doi:10.1002/jcc.20035.

WILDMAN, S. A.; CRIPPEN, G. M. Prediction of Physicochemical Parameter by Atomic Contributions. **Journal of Chemical Information and Sciences**, v.39, p.868–873, 1999.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Early detection**. Geneva: WHO, 2008. (Cancer control: knowledge into action: WHO guide for effective programmes, module 3). Disponível: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/43743/9241547338eng.pdf>.

WU, D. et al. The blood–brain barrier: structure, regulation, and drug delivery. **Sig Transduct Target Ther**, v.217, 1-26, 2023.

ZHANG, Y. et al. Application of Computational Biology and Artificial Intelligence in Drug Design. **International Journal of Molecular Sciences**, v.23, p.1-35, 2022.