

## 1. INTRODUÇÃO

A inflamação é um fenômeno complexo que desempenha um papel essencial na resposta imunológica no organismo contra lesões e ou patógenos (Saha et al, 2020). É caracterizada por uma série de eventos bioquímicos e celulares que visam combater os agentes invasores e iniciar o processo de cicatrização (Jean-laurent et al, 2022). Embora seja uma resposta natural do corpo e para defesa e reparo tecidual, sua desregulação pode levar ao desenvolvimento de doenças crônicas (Germolec et al, 218).

O médico romano Aulus Cornelius Celsus descreveu em 1478 o processo inflamatório através de características que se conheciam como os quatro sinais cardinais da inflamação: dor, rubor, edema e calor. Em 1858, em Berlim, Rudolf Virchow, um médico, identificou o quinto sinal cardinal da inflamação, relacionado à perda de função. Posteriormente, em 1927, Thomas Lewis comprovou que substâncias químicas funcionavam como mediadores das alterações vasculares que ocorrem durante o processo inflamatório. Esses estudos serviram como base para descoberta dos primeiros agentes anti-inflamatórios e desenvolvendo uma visão mais abrangente do que seria esse processo e reconhecendo seu papel associado a diversas patologias, incluindo doenças crônicas, como a diabetes, obesidade, arteriosclerose, distúrbios neurodegenerativos e câncer (Mitali et al, 2023; Etienne, Rachelle et al, 2021; Branchford et al, 2018).

O estudo contínuo da inflamação é fundamental para a busca de novas abordagens terapêuticas (Wong et al, 2021) O planejamento de fármacos por triagem virtual representa uma abordagem inovadora e eficiente para a descoberta de novas moléculas (Maia et al, 2020). Essa abordagem é baseada em simulações computacionais e modelagem molecular a qual possui o potencial de acelerar, otimizar e reduzir os custos do processo de seleção de compostos promissores (Patel et al, 2020)

A modelagem molecular é uma estratégia poderosa na descoberta de novos fármacos, permitindo a otimização de compostos químicos já existentes para melhorar suas propriedades farmacológicas (David et al, 2020). A substituição e/ou a adição de grupos funcionais são exemplos comuns utilizados nesse processo e que demonstram impacto positivo na descoberta de fármacos eficazes e seletivos para a inflamação (Saikia et al, 2019).

Na busca por novos compostos anti-inflamatórios, os produtos naturais continuam sendo uma área de grande interesse na pesquisa farmacêutica. (Najmi et al, 2022). A exploração da diversidade de compostos naturais, juntamente com o avanço das técnicas de isolamento, caracterização e síntese, oferece oportunidades promissoras para o desenvolvimento de novos fármacos anti-inflamatórios (Li Zhang et al, 2020). Os triterpenos representam uma classe importante de compostos naturais com atividade contra a inflamação (Faustino et al, 2023), dentre eles temos a  $\alpha$ -amirina, lupeol, ácido betulínico, ácido oleanólico e entre outros. Esses compostos podem modular a resposta inflamatória por meio da inibição de enzimas que estão ligadas a esse processo, da regulação de expressão gênica e da modulação de vias de sinalização celular (Fallon et al, 2022).

O Lupeol é um triterpeno presente em muitas plantas medicinalmente eficazes e possui diversas atividades biológicas como anti-inflamatório, antioxidante e anti dislipidêmicos pois sua estrutura química é similar à estrutura do colesterol, que por sua vez é um precursor do grupo dos anti-inflamatórios esteroidais glicocorticoides (Kalousi et al, 2023). A semissíntese pode ser uma abordagem altamente eficaz para otimizar a utilização desses compostos, permitindo a criação de derivados com potencial biológico por meio da incorporação de grupos farmacofóricos (Ren et al, 2019).

Nesse contexto, a utilização de técnicas computacionais para realização da triagem virtual tornaram-se uma ferramenta indispensável no desenvolvimento de novas moléculas, abrindo novas perspectivas para o tratamento da inflamação.

Portanto de forma a obter moléculas inéditas visando a atividade anti-inflamatória, um planejamento *in silico* foi conduzido com o propósito de desenvolver essas novas moléculas e por meio de uma triagem virtual baseada na estrutura do receptor utilizando a enzima 2V95, as moléculas projetadas foram selecionadas para testes *in vitro*, visando avaliar sua atividade contra a inflamação.

## 2. REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO

### 2.1. Conceito e características da inflamação

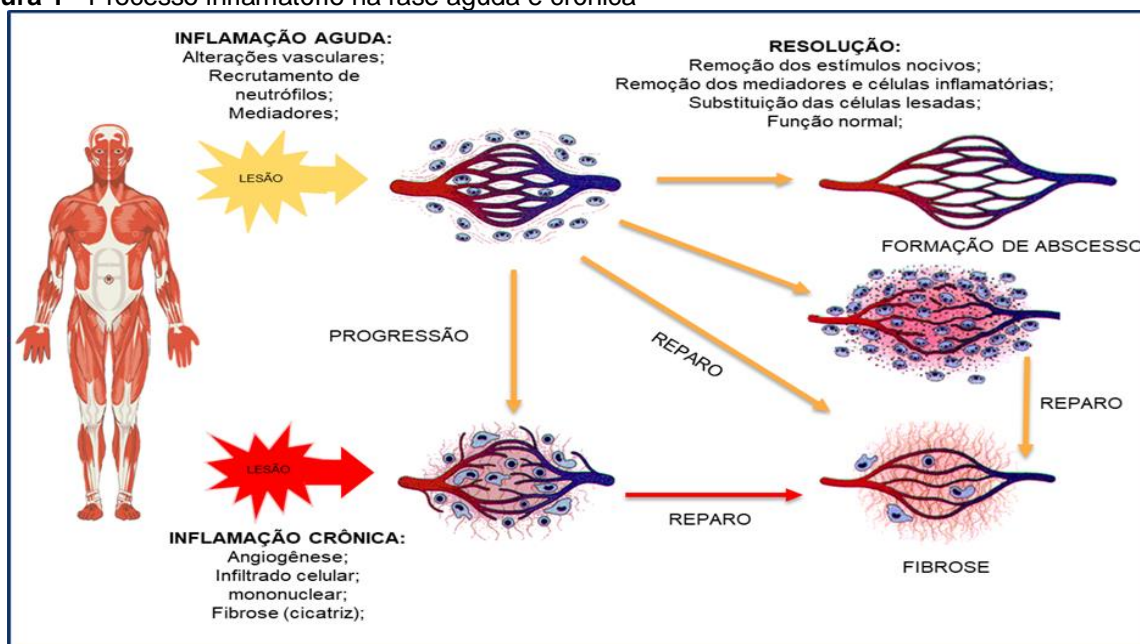
A inflamação (do latim “*inflammatio*” que significa atear fogo/queimar) é um processo responsável no reconhecimento de lesões ou infecções microbianas e que inicia o processo de cura (Abdulkhaleq et al, 2018). O mecanismo da inflamação apresenta uma série de respostas organizadas em eventos celulares e vasculares que apresentam secreções humorais específicas (Woodell-May et al, 2020). Essas vias envolvem o recrutamento de leucócitos, plasma e fluidos até o local da lesão, mediadores e outras moléculas sinalizadoras, como por exemplo, prostaglandinas, radicais livres derivados de oxigênio e nitrogênio, que são liberados pelas células de defesa, e assim, iniciar o processo de reparo tecidual (Banda et al, 2022).

A resposta inflamatória é desencadeada por duas fases: Aguda e Crônica (Pahwa et al, 2022), como mostra a **figura 1**. Na fase aguda ocorrem danos nos tecidos devido ao trauma, invasão microbiana ou compostos nocivos ao organismo (Matthew et al, 2021). Começa na microvasculatura que normalmente aparece em poucos minutos após a infecção ou lesão tecidual, é rápida e evolui para vasodilatação, e em seguida torna os vasos permeáveis (Buckley et al, 2013). Esse processo resulta na entrada de mediadores e por fim na produção do edema (Tristan et al, 2023).

Já a inflamação crônica se diferencia pela infiltração de células mononucleares, proliferação de fibroblastos, fibras e formação de tecido conjuntivo (Marchi et al, 2023). A degeneração tecidual normalmente é mediada por espécies de nitrogênio/oxigênio e proteases que contribuem para a progressão do dano tecidual e reparo secundário, incluindo fibrose e formação de granuloma (Li Meirong et al, 2021). É conhecida como um processo lento e de longo prazo, que pode durar meses, anos e até mesmo para a vida toda e está associada a doenças, incluindo distúrbios neurodegenerativos, câncer e aterosclerose (Tu et al, 2022). Normalmente, a

extensão e os efeitos causados pela inflamação crônica variam de acordo com a causa da lesão e a capacidade do organismo de restaurar o dano (Nathan et al, 2010).

**Figura 1** - Processo inflamatório na fase aguda e crônica



### 2.1.1. Principais mediadores e vias de sinalização envolvidos na resposta inflamatória

Os mediadores são substâncias liberadas por células do sistema imunológico durante a resposta inflamatória (Van loo et al, 2023). A produção de mediadores no sistema imunológico está associada à indução de fatores de transcrição, por exemplo, o Fator Nuclear kappa  $\beta$  (NF- $\kappa\beta$ ), Fator Nuclear de células T ativadoras, e transdutor de sinal e ativador de transcrição (STAT) (Zhao et al, 2021). O NF- $\kappa\beta$  possui um papel importante na expressão de genes que codificam citocinas pró-inflamatórias, quimiocinas, enzimas induzíveis, como a ciclooxigenase (COX-2) e o óxido nítrico sintase induzível (iNOS), fatores de crescimento e receptores imunológicos (Capece et al, 2022).

As citocinas são moléculas de sinalização celular e sua secreção pode ser induzida por macrófagos, linfócitos B e mastócitos. Essas moléculas fornecem comunicação entre células na resposta imune e estimulam a migração de células para o local da inflamação. As citocinas podem ser divididas em quatro grupos: Th1 (IL-2,

IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ ), Th2 (IL-4, IL-5, IL-6, IL-9 e IL-13), Th17 (IL-17, IL-21, IL-22) e Treg (TGF $\beta$ , IL-10) (Chen et al, 2017; Lauritano et al, 2023; Zhang et al, 2023)

As células Th1 estão relacionadas na ativação dos macrófagos e destroem os patógenos intracelulares. As células Th2 atuam na indução da diferenciação de imunoglobulinas e na secreção de anticorpos. Já as células Th17 possuem ação na defesa contra infecções causadas por patógenos. Enquanto as células Treg estão ligadas a supressão do sistema imunológico, resultando no impedimento de resposta excessivas das células T (Barnabei et al, 2021; Schnell et al, 2023; Wu et al, 2023).

As citocinas atuam em diversas funções fisiológicas normais, incluindo no crescimento e diferenciação de células hematopoiéticas, linfoides e na regulação dos mecanismos de defesa do hospedeiro (Toshio et al, 2021). Entretanto, quando sua produção se torna descompensada ou inadequada pode levar ao desenvolvimento de doenças crônicas, como asma, aterosclerose, lesão renal, artrite reumatoide e entre outros. (Koper-Lenkiewicz et al, 2022). Com isso, os níveis de citocinas funcionam como indicadores para avaliação de distúrbios clínicos, onde pode ser monitorado o estado imunológico do paciente e por fim oferecer ajustes na terapia utilizando contexto clínico (Liu et al, 2021).

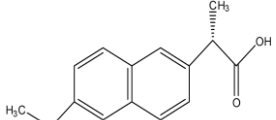
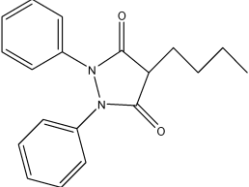
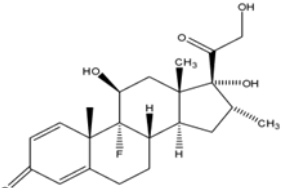
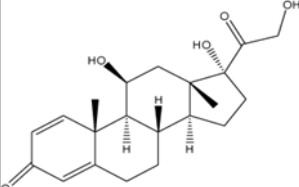
### 2.1.2. Tratamento farmacológico para doenças inflamatórias

O tratamento farmacológico para a inflamação é uma abordagem comumente utilizada para controlar os sintomas e diminuir a progressão de doenças inflamatórias (Patil et al, 2019). Existem diferentes classes de medicamentos disponíveis, cada uma com mecanismos de ação específicas.

Os principais anti-inflamatórios são os não esteroidais, por exemplo Naproxeno e fenilbutazona, e os esteroides que podem ser a hidrocortisona e dexametasona (Parnian et al, 2020; Stone et al, 2021), o **quadro 1** ilustra a estrutura química de cada composto juntamente com suas propriedades farmacológicas. Esses anti-inflamatórios são utilizados para tratar doenças inflamatórias agudas e crônicas (Avrom et al, 2017). Entretanto, o uso prolongado desses medicamentos podem causar diversos efeitos colaterais indesejáveis (Stacey et al, 2021). Fármacos esteroides podem causar atrofia adrenal, osteoporose, catarata e glaucoma (Jeanneteau et al, 2023). Enquanto os fármacos não esteroidais podem causar

úlceras e broncoespasmos devido ao bloqueio de prostaglandinas e a produção de leucotrieno (Samik et al, 2020).

**Quadro 1** - Exemplos de agentes anti-inflamatórios não esteroidais

| Nome           | Estrutura   | Características farmacológicas  |
|----------------|---|---|
| Naproxeno      |    | <p>Farmacodinâmica: Age como inibidor reversível da síntese de prostaglandinas, inibidor não seletivo da COX.</p> <p>Farmacocinética: É administrado via oral e dissolvido no suco gástrico, absorvido no trato gastrointestinal, sua distribuição é cerca de 0,1/kg e sua meia-vida é de 14 horas. É metabolizado no fígado e excretado via renal.</p> |
| Fenilbutazona  |   | <p>Farmacodinâmica: Age inibindo a ciclooxigenase restringindo a produção de prostaglandinas e a funções leucocitárias.</p> <p>Farmacocinética: É administrado via oral, absorvida no trato gastrointestinal, distribui-se em diversos tecidos e líquidos, sua meia vida é de 75 horas, metabolizada no fígado e excretada pela urina e fezes.</p>      |
| Dexametasona   |  | <p>Farmacodinâmica: Age bloqueando a cascata do ácido araquidônico, por meio da ação da lipocortina, que age inibindo a fosfolipase A2.</p> <p>Farmacocinéticas: sua distribuição é de cerca 86,1%, seu metabolismo ocorre no fígado e a excreção ocorre em larga escala nos rins, podendo ocorrer também pela bile.</p>                                |
| Hidrocortisona |  | <p>Farmacodinâmica: Age diminuindo produção de citocinas por linfócitos, monócitos, mastócitos e eosinófilos e a inibição do metabolismo do ácido araquidônico.</p> <p>Farmacocinética: É bem absorvido sistematicamente, sua distribuição é quase que indetectável, seu metabolismo é hepático e são excretados pelos rins.</p>                        |

### 2.1.2.1. Agentes anti-inflamatórios esteroides

#### 2.1.2.1.1. Glicocorticosteroides

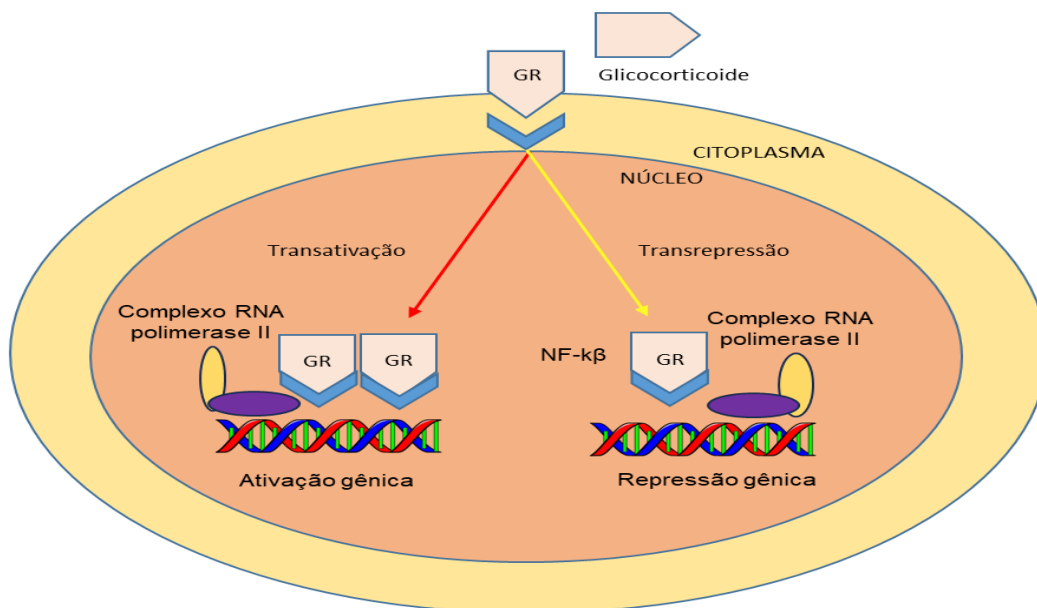
São hormônios que possuem um núcleo esteroide em sua estrutura formado por quatro anéis com 17 átomos de carbono (Maryam et al, 2022). A produção desse

hormônio depende de enzimas adrenais ou suprarrenais que são glândulas endócrinas localizadas nos rins e são responsáveis pela conversão do colesterol em hormônios esteroides (Timmermans et al, 2019). A síntese dos glicocorticoides inicia-se na mitocôndria, onde o colesterol é convertido em pregnenolona pelo citocromo CYP11A (Castillo et al, 2015). Em seguida, a pregnenolona é enviada ao retículo endoplasmático rugoso onde é convertida em progesterona e 17- $\alpha$ -hidroxipregnenolona pelas enzimas 3 $\beta$ -HSD e CYP17 (Slominski et al, 2020). E através de uma série de hidroxilações, essas moléculas originam os esteroides, isso inclui os mineralocorticoides, glicocorticoides e os hormônios sexuais (Loke et al, 2020).

Os efeitos farmacológicos e fisiológicos dos glicocorticoides acontecem pela ligação ao receptor de glicocorticoides, pertencente à família de receptores hormonais nucleares (**figura 2**). Esses por sua vez possuem um mecanismo genômico chamado de transrepressão, onde monômeros de moléculas de glicocorticoides e seus receptores interagem com fatores de transcrição, como a proteína ativadora (AP-1) e o NF- $\kappa$ B, através de interações proteína-proteína e por fim promovem o efeito inibitório de suas funções (Tiehua et al, 2020). Através dessa via, por exemplo, a síntese de citocinas pró-inflamatórias como a IL-6 e IL-2, TNF- $\alpha$  e prostaglandinas é diminuída (Shimba et al, 2020). Sendo assim, suas funções que podem ser resumidas como anti-inflamatórias/imunossupressoras.



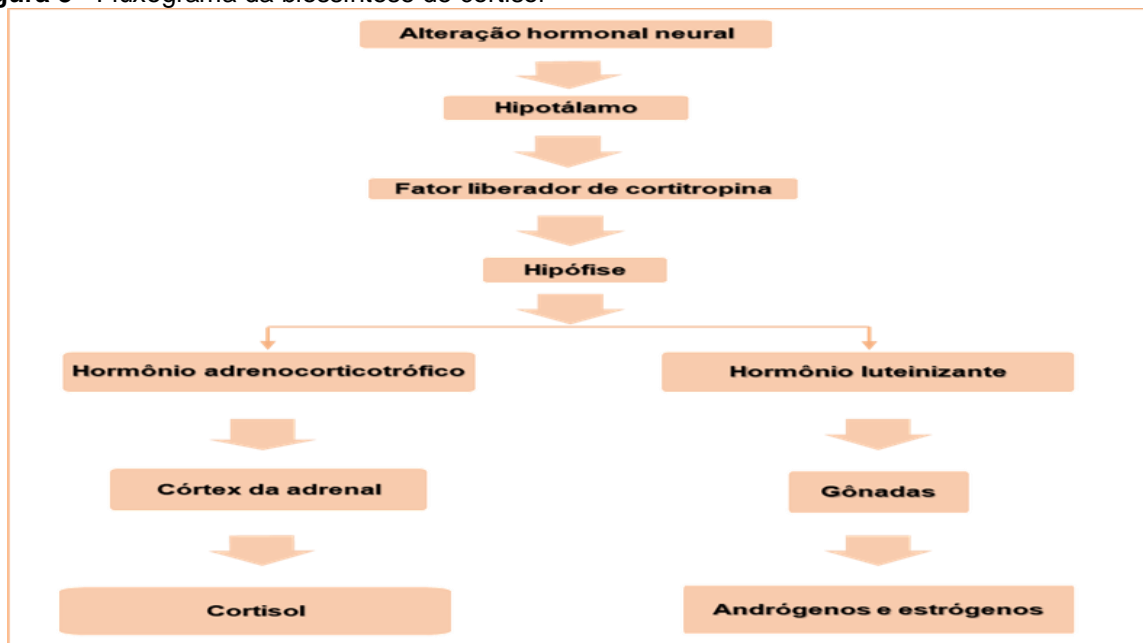
**Figura 2** - Mecanismo de ação dos glicocorticoides no núcleo celular



Os glicocorticóides são capazes de mudar a resposta imune de Th1 para Th2 e podem reduzir a atividade do fator de transcrição STAT4 e por fim liberando citocinas Th1, incluindo Il-2 e INF- $\gamma$  (Shimba et al, 2020b). Induzem a inibição de fator necrose tumoral, bem como moléculas de adesão, como a lipocortina-1, e ainda as enzimas como a sintase induzida pelo óxido nítrico (iNOS) e a fosfolipase A2 (Taves et al, 2021)

O cortisol ou a hidrocortisona é o principal glicocorticoide natural presente no ser humano (Yoshinao et al, 2021). Sua síntese é regulada pelo hormônio adrenocorticotrófico e secretado pela hipófise, em resposta à liberação de um neuropeptídeo chamado de Fator Liberador de Corticotrofina (**figura 3**) (Bruscoli et al, 2021). Por ser um derivado lipídico com baixa solubilidade plasmática, apenas 80% do cortisol é transportado e ligado à uma proteína plasmática específica chamada de globulina fixadora de cortisol-transcortina, liga-se 10% à albumina, e o restante circula de forma livre no organismo (Doets et al, 2020).

**Figura 3** - Fluxograma da biossíntese de cortisol



Seu metabolismo é hepático e sua eliminação ocorre por via renal. Menos de 1% do cortisol em sua forma livre é excretado na urina. Tanto o cortisol quanto seus análogos são bem absorvidos pelo trato gastrointestinal (Kapugi et al, 2019; Morais et al, 2023).

Os glicocorticóides como a dexametasona são amplamente utilizados na prática clínica como agentes anti-inflamatórios (Zappavigna et al, 2020). A DEX exerce função reguladora na inflamação através da ligação ao receptor de glicocorticóides (Ahmed et al, 2020) Seus efeitos clínicos são mediados pela transrepressão da expressão de genes pró-inflamatórios (Aravind et al, 2020). Entretanto, seus efeitos colaterais podem incluir osteoporose, diabetes, perda de massa muscular e estão associados à transativação de genes que envolve o receptor de glicocorticoide (Compston, 2018).

Dentre as doenças inflamatórias, os glicocorticóides normalmente são utilizados no tratamento da asma, rinite alérgica, dermatite atópica, artrite reumatóide, entre outras (Samuel et al, 2017). Podem ser encontrados em diferentes formulações, como pomadas, inaláveis, colírios, loções, soluções, suspensões, comprimidos e injetáveis. Atualmente temos diversos glicocorticóides disponíveis no mercado, dentre eles temos: a budesonida, dipropionato de beclometasona, dexametasona,

prednisolona e hidrocortisona (TODOROVIĆ et al, 2019; Espósito et al, 2020; Nazir et al, 2021).

Os mais utilizados são a prednisolona, dexametasona e hidrocortisona onde todos apresentam boa disponibilidade, são metabolizados no fígado e tem seus metabólitos excretados pelos rins, porém apresentam diferenças na potência anti-inflamatória e no tempo de meia vida (Gargi et al, 2023).

Embora o tratamento com glicocorticóides tenha trazidos inúmeros benefícios aos pacientes, ainda existe preocupação a respeito da sua utilização devido aos efeitos adversos associados. Sabe-se que uso prolongado de glicocorticóides em pacientes asmáticos pode levar à deposição desses esteróides inalados na orofaringe (Hardy et al, 2020; Hodgens et al, 2023). Os seus efeitos adversos estão associados tanto com a dose média, como o uso prolongado de glicocorticóides sintéticos por mais de duas semanas, possibilitando o surgimento da supressão do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, miopia, glaucoma e características de síndrome de Cushing (Micallef et al, 2023; Meiying et al, 2023).

O atual conhecimento dos efeitos adversos dos anti-inflamatórios faz com que novas pesquisas sejam continuamente realizadas a fim de que sejam desenvolvidas novas moléculas que apresentam baixa toxicidade (Jeanneteau et al, 2023). Portanto, continua sendo um desafio para a pesquisa farmacêutica o desenvolvimento de novas drogas seguras e mais modernas que consigam modular a resposta inflamatória levando em consideração os efeitos adversos e o alto custo dos medicamentos sintéticos esteroides ou não esteróides, portanto a busca por novos agentes anti-inflamatórios de origem vegetal vem se popularizando com o foco principal de obter melhor eficácia, melhor segurança e com uma maneira mais econômica de tratar a inflamação (Attiq et al, 2018; Fung et al, 2020; Kraft et al, 2023).

## **2.2. Planejamento racional e modificação molecular**

O planejamento racional e a modificação molecular são abordagens essenciais no desenvolvimento de fármacos eficazes e seguros (Talluri, 2020). Essas estratégias buscam otimizar as propriedades farmacológicas dos compostos, melhorando sua atividade e seletividade (Jimenez-luna et al, 2020). O processo do planejamento molecular é estratégico e baseado em dados científicos que visam

projetar compostos farmacologicamente ativos com base no conhecimento empírico das interações molécula-alvo (Duxin et al, 2022). Envolve a identificação de alvos terapêuticos relevantes e o desenvolvimento de compostos que interajam com esses alvos de maneira seletiva e eficaz (Meyers et al, 2021). O objetivo é criar moléculas que possuam propriedades desejáveis e minimizem os efeitos adversos (Bissaro et al, 2020)

Uma etapa fundamental do planejamento é a modificação molecular, que consiste em alterar a estrutura química dos compostos para otimizar suas propriedades farmacológicas (Curtis et al, 2022). Essas modificações podem ser realizadas por meio de diversas estratégias, como a introdução ou remoção de grupos funcionais, a modificação estereoquímica, a substituição de grupos específicos e a síntese de derivados (Pauric et al, 2021). Cada modificação molecular tem o objetivo de melhorar aspectos como a atividade, solubilidade, biodisponibilidade e a seletividade dos compostos (Shen et al, 2021)

A modificação molecular também pode envolver a utilização de técnicas computacionais, como a triagem virtual e o modelamento molecular (Sabe et al, 2021). A triagem virtual é uma estratégia que permite identificar compostos candidatos a partir de uma biblioteca virtual de moléculas, utilizando algoritmos de análise e predição (Lin et al, 2020). Essa abordagem acelera o processo de descoberta de fármacos, permitindo a seleção de compostos promissores para testes experimentais (Manish et al, 2022).

A modificação molecular, combinada com o planejamento racional, desempenha um papel fundamental na descoberta de fármacos inovadores (Brogi et al, 2020). Essas abordagens possibilitam o desenvolvimento de compostos com maior potência, seletividade e segurança, contribuindo para o avanço do tratamento de diversas doenças (Doytchinova, 2022). Além disso, o uso das técnicas computacionais permite o processo de desenvolvimento de fármacos, economizando tempo e recursos (Salo-Ahen et al, 2021).

### **2.3. Planejamento virtual de fármacos por triagem virtual**

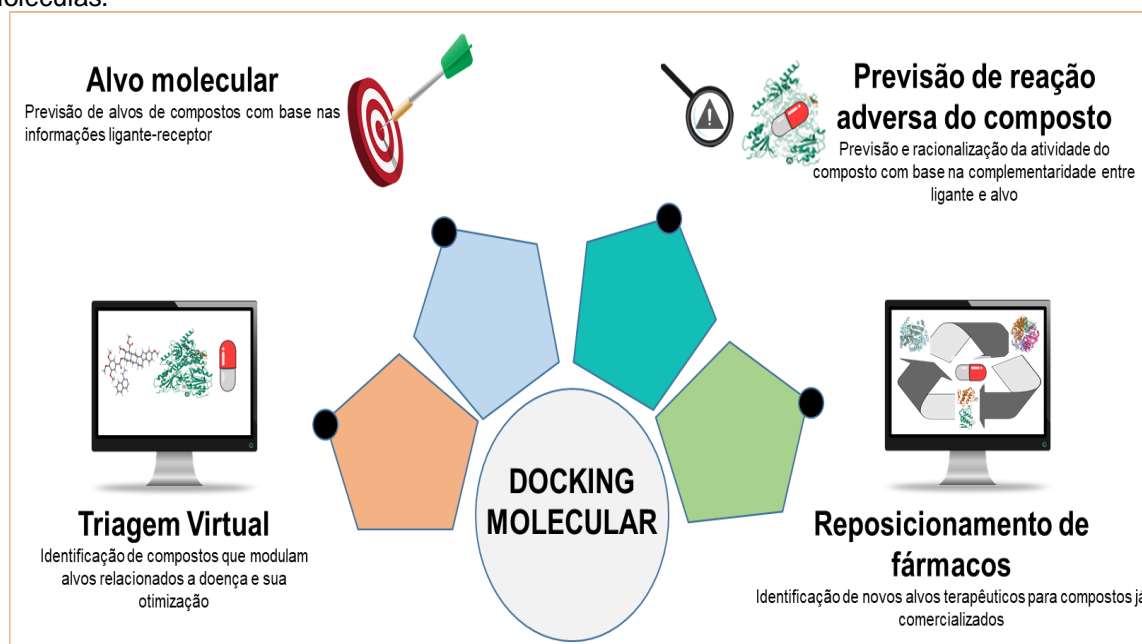
A triagem virtual é um processo computacional que permite a seleção de compostos promissores para o desenvolvimento de fármacos, com base em

interações moleculares preditas (Pagdala et al, 2017). Envolve a aplicação de métodos de modelagem molecular e simulações computacionais para identificar compostos que se ligam de forma adequada a um alvo terapêutico. (Amaro et al, 2018).

O docking molecular é um método baseado em estrutura *in silico* que explora o comportamento de moléculas no sítio de ligação de uma proteína (Maciej et al, 2018). É amplamente utilizado no desenvolvimento de novos fármacos pois prever interações ligante-alvo em nível molecular e realizam um algoritmo de busca de uma conformação do ligante onde a energia mínima seja alcançada (**figura 4**) (Pinzi et al, 2019).

Essa abordagem permite que aconteçam triagens virtuais de milhares de compostos em um curto período de tempo, reduzindo assim os custos de identificação e aperfeiçoamento dos candidatos à fármacos (Rieto-martinez et al, 2018). Geralmente, essas interações acontecem por meio de ligação de macromoléculas (proteínas) biológicas e pequenas moléculas (ligantes) que permitem especificidade contra um alvo e que, por fim, seja calculado para outros processos de otimização (Crampon et al, 2022).

**Figura 4** - Adaptado de Pinzi et al (2019) demonstrando algumas facetas do planejamento virtual de moléculas.



Os modelos de software de dockings mais comumente utilizados são o GOLD e o AutoDock, esses são considerados mais fáceis de manusear devido suas interfaces e possuem excelentes predições baseados em algoritmo genético (Morris et al, 1998). Esses programas são utilizados no design de drogas que se baseiam na previsão de interações dos ligantes em proteína-alvo (Ute et al, 2023). Uma pequena parte da molécula do ligante é alinhada dentro da cavidade de ligação da proteína alvo e a pose resultante é avaliada por pontuação específica (Yeye et al, 2023). Essa função gera uma pontuação para cada pose e esses valores são utilizados para classificar diferentes poses e ligantes (Stanzione et al, 2021).

Essas ferramentas também são utilizadas para identificar possíveis efeitos colaterais de candidatos a fármacos que tiveram falha nos ensaios clínicos, devido a interações inesperadas relacionadas ao alvo (Pantsar et al, 2018). Também são utilizadas na farmacovigilância em medicamentos aprovados pois permitem revelar possíveis riscos de segurança que podem não ter sido detectados nos ensaios clínicos (Termitope et al, 2022).

Cada software tem suas vantagens e desvantagens em relação à precisão de encaixe, precisão de classificação e consumo de tempo (Kontoyianni, 2017). Isso acontece pelo fato de que a pose com a pontuação mais alta não necessariamente é a melhor posição, pois o ligante pode estar em uma orientação completamente diferente se comparado com o ligante cocrystalizado (Genpeng et al, 2023). Por exemplo, no caso mais simples, o acoplamento do ligante é realizado dentro do sítio de ligação do ligante cocrystalizado, esse processo é chamado de “auto-docking”. Por outro lado, há ligantes que são acoplados na estrutura do receptor porém em sítios diferentes do ligante cocrystalizado, esse processo denomina-se “cross-docking” (Ramirez et al, 2018). Essa abordagem também contribui para a redução do uso de animais em ensaios pré-clínicos, uma vez que a seleção inicial dos compostos é realizada virtualmente (Meenakshi et al, 2018).

## **2.4. Produtos Naturais**

Por séculos, os produtos naturais foram utilizados como modelo único de terapia (Caesar et al, 2019). Essas drogas podem ser extraídas de materiais inorgânicos, produtos vegetais e animais (Kim et al, 2023). Geralmente eram

associados com misticismo, astrologia ou religião, entretanto, hoje assegura-se a eficácia desses produtos que são conhecidos como os primeiros fitoterápicos (Calixto et al, 2019).

A fitoterapia representa uma boa parte de produtos farmacêuticos que estão em ascensão atualmente (Alam et al, 2020). Segundo a OMS (2019), cerca de 75% da população mundial depende de produtos naturais para fins de cuidados na saúde. Isso deve-se ao fato de que muitas das vezes a terapia convencional mostra-se uma produção cara e que acabam produzindo efeitos colaterais indesejáveis (Zhang et al, 2018).

A utilização de substâncias de origem natural pode abordar diversos problemas de saúde com menos efeitos colaterais (Duan et al, 2021). Além disso, existem influências culturais ou religiosas que levam o público a aceitar melhor o uso de fitoterápicos (Bernardini et al, 2018). Dados da literatura comprovam que a medicina moderna e a fitoterapia podem ser combinadas, como é o caso das pomadas à base de ervas, como a *Aloe Vera* que são associadas com hidrocortisona e que funcionam como um transportador ativo de esteróides (Shams et al, 2022).

Os produtos naturais oferecem vantagens e desafios para o processo de desenvolvimento de novos fármacos (Phil, 2018). São conhecidos por possuir complexidade estrutural, massa molar maior, maior número de átomos de carbono, mais aceitadores e doadores de ligação H e maior rigidez molecular em comparação com outros fármacos sintéticos (Schultz et al, 2019). Essas características podem ser vantajosas se considerando as interações com proteínas, visto que, essas estruturas são otimizadas para servir funções biológicas na regulação de mecanismos de defesa e de interações com outros organismos (Criollo-Mendoza et al, 2023).

Nos dias atuais, há muitas classes farmacológicas disponíveis no mercado que são derivados de produtos naturais, como por exemplo, a atropina de *Atropa belladonna* e reserpina de *Rauwolfia serpentina* que são da classe dos alcaloides, a digoxina da *Digitalis purpurea* que faz parte da classe dos digitálicos entre outros (Singh et al, 2018; Cutler et al, 2023; De Sweet et al, 2023)

Vários extratos vegetais e suas substâncias ativas são estudados e observados em ensaios pré-clínicos (Moses et al, 2023), para avaliar seu potencial anti-inflamatório, antioxidante e antimicrobiano, por exemplo (Nesci et al, 2023). Os

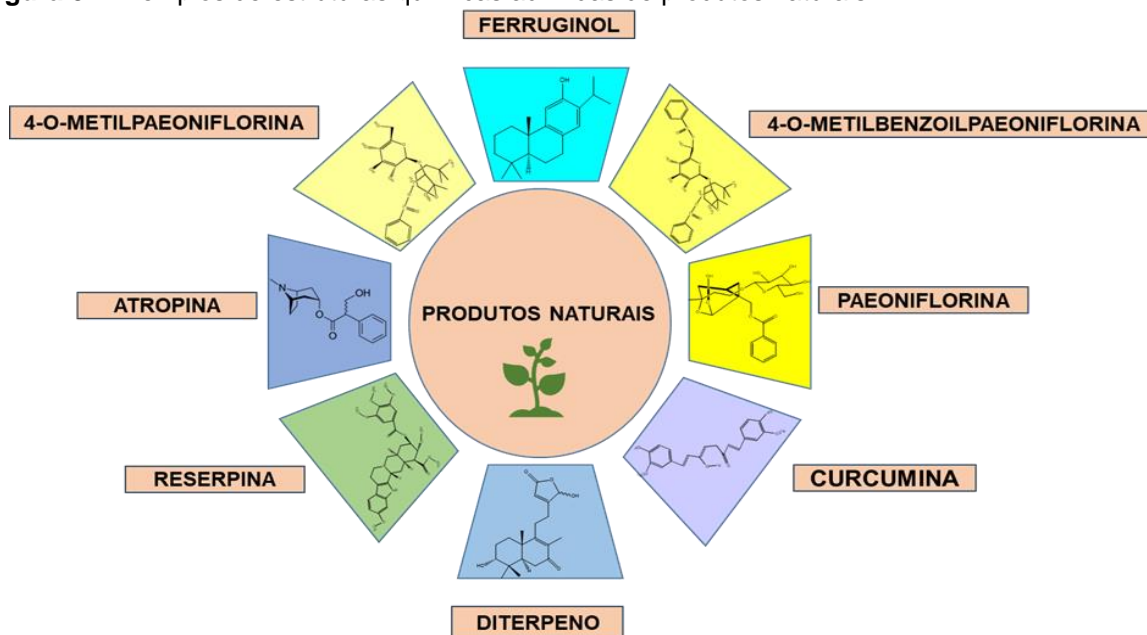
resultados das investigações contra a inflamação constataram que várias dessas moléculas exercem excelentes propriedades biológicas que bloqueiam importantes vias de sinalização, como a NF- $\kappa$ B e proteínas quinases ativadas por mitógenos, que possuem papel fundamental na produção de diversos mediadores pró-inflamatórios (Abdul et al, 2023; El-Sherbeni et al, 2023).

Esses compostos bioativos podem regular o processo de cicatrização no processo inflamatório e são utilizados no desenvolvimento de novos compostos derivados para esse fim (Tinpun et al, 2020). Por exemplo, os resultados da curcumina na cicatrização de feridas demonstraram diminuir significativamente o TNF-alfa e IL-1beta (Ibrahim et al, 2018). Alilou et al (2022) avaliou o comportamento de diterpenos no potencial de reparo de feridas em camundongos, onde constatou-se o potencial anti-inflamatório por inibir a secreção de IL-6 e TNF- $\alpha$ . O ferruginol diminuiu a inflamação ao reduzir a liberação de citocinas, como a TNF- $\alpha$ , IL-6 e NF- $\kappa$ B, provocando a redução de fibra cardíaca intensa relacionadas com as células inflamatórias (Zhang et al, 2021).

A paeoniflorina é um composto monoterpênico onde a atividade anti-inflamatória e o seu mecanismo de ação já foram elucidados. Nesse sentido, foram desenvolvidos compostos derivados desse composto com intuito de potencializar suas atividades farmacológicas. Os derivados 4-O-metilpaeoniflorina e 4-O-metilbenzoilpaeoniflorina demonstraram melhor atividade anti-inflamatória do que seu composto original, tendo uma maior inibição de produção de óxido nítrico, IL-6 e TNF- $\alpha$  (**figura 5**) (Bi et al, 2017; Yang et al, 2020).



**Figura 5** - Exemplos de estruturas químicas advindas de produtos naturais.



#### 2.4.1. Triterpenos na inflamação

Os triterpenos são uma classe de compostos naturais amplamente distribuídos em plantas (Miranda et al, 2022). São metabólitos secundários que possuem 30 átomos de carbono que são formados por seis unidades de isopreno (Sandeep et al, 2020). São divididos em dois grupos principais: tetracíclicos (damarano, lanostano e cicloartano) e os triterpenos pentacíclico (tipo oleanano, ursano e lupano) (Jiao et al, 2023). Esses compostos têm sido alvo de crescente interesse na pesquisa farmacêutica devido às suas propriedades biológicas diversas, incluindo atividades anti-inflamatórias, antitumoral e antimicrobiana (Aikaterini et al, 2020).

São conhecidos por sua capacidade de modular a resposta inflamatória em diferentes níveis, agindo em várias etapas da cascata inflamatória (Tzu-Chien et al, 2010). Esses compostos apresentam diferentes mecanismos, incluindo a inibição de enzimas inflamatórias, a regulação da expressão gênica e a modulação de vias de sinalização celular (Zhehuan et al, 2023).

Muitos triterpenos têm a capacidade de inibir enzimas-chave envolvidas na produção de mediadores inflamatórios, como a ciclooxygenase (COX) e a lipoxigenase (LOX) (Wang et al, 2015). Também podem modular a expressão gênica de citocinas e moléculas de adesão celular envolvidas na resposta inflamatória. Esses compostos

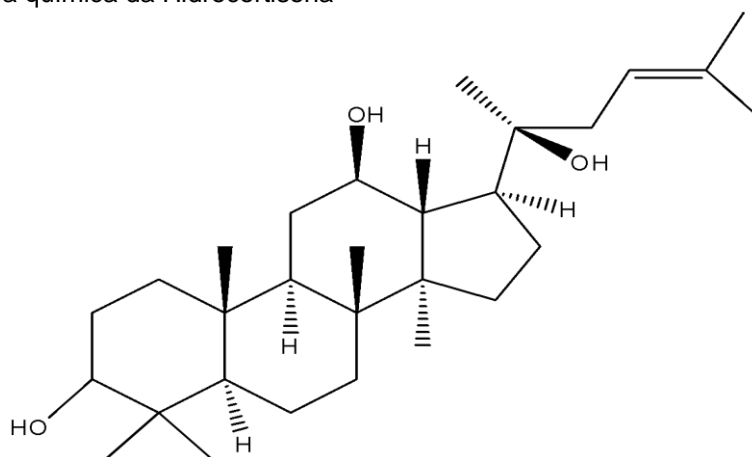
podem regular a expressão de genes inflamatórios, como o TNF, a IL-1 e IL-6 e IL-17, reduzindo assim a produção dessas citocinas inflamatórias (Sharma et al, 2016).

Alguns triterpenos têm a capacidade de modular vias de sinalização celular na inflamação, como a via do NF- $\kappa$ B e a via Janus quinase/sinal transdutor e ativador de transcrição (JAK/STAT) (Zhang e at, 2015; Renda et al, 2022). Essas vias desempenham um papel crucial na regulação e modulação adequada da resposta inflamatória.

Dados da literatura indicam que os ácidos ursólico, oleanólico e betulínico quando dosados em 12,5 mg/kg, diminuem significativamente a atividade da fosfolipase A2, enquanto a atividade de peróxido de eosinófilos foi reduzida apenas pelo ácido ursólico (Radwan et al, 2023; Tayyab et al, 2023).

Resultados experimentais revelaram que triterpenos, como o ácido equinocístico e seu derivado 3-O-glicosídeo-protopanaxadiol, ácido boswélico e seu derivado ácido acetil-11-ceto beta boswélico podem induzir a translocação de glicocorticóides para o núcleo sem sua transativação e por fim inibir a atividade de NF- $\kappa$ B (Karra et al, 2019; Mingying et al, 2020). Isso sugere que compostos como os triterpenos são substâncias promissoras devido às suas semelhanças estruturais com os GC, apontando sua atividade como moduladores seletivos dos receptores de GC (Wang et al, 2018)

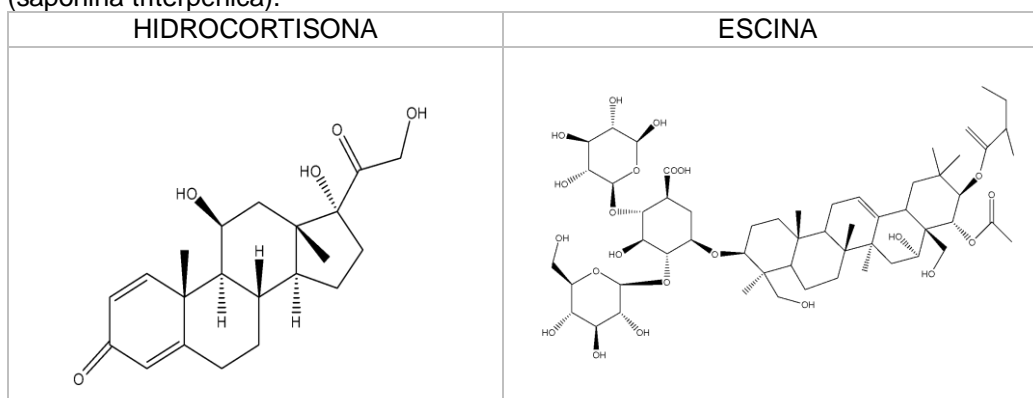
**Figura 6** - Estrutura química da Hidrocortisona



O autor Shu-Qi et al (2018a) investigou a hidrocortisona (**figura 6**) como ligante endógeno para o RG e concluiu que a porção policíclica do esqueleto

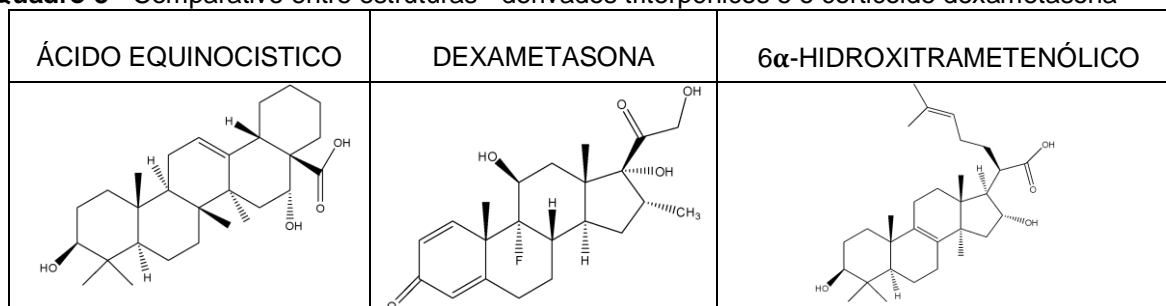
triterpênico é semelhante à ele. Ainda esse estudo comparou a administração oral de hidrocortisona e Escina (**quadro 3**) em camundongos e identificou-se a inibição do edema da pata induzida por carragenina, resultado da diminuição da produção de prostaglandinas (Shu-Qi et al, 2018b) Muitos efeitos farmacológicos e clínicos dos triterpenos são focados no endotélio capilar e a Literatura sugere que a resposta aos GR envolve a inibição de via pró inflamatórias que determinam o aumento da permeabilidade capilar e por fim o edema tecidual (Hisham et al, 2021).

**Quadro 2** - Comparativo de estruturas – à esquerda, hidrocortisona (corticoide), à direita estrutura escina (saponina triterpênica).



Cálculos no docking molecular de encaixe previram a ligação favorável do ligante com GR e que são consistentes com as observações experimentais anteriores. Exemplo disso, temos a combinação do ácido equinocístico com Dexametasona, onde ambos induziram a apoptose (Demetra et al, 2016). Hui Xu et al (2019) por meio de docking revelou que o 16 $\alpha$ -hidroxitrametenólico funcionou como agonista de GR e diminuiu o dano da barreira epitelial intestinal da monocamada Caco-2 induzida por TNF- $\alpha$  apresentando ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas com GR. (**quadro 4**).

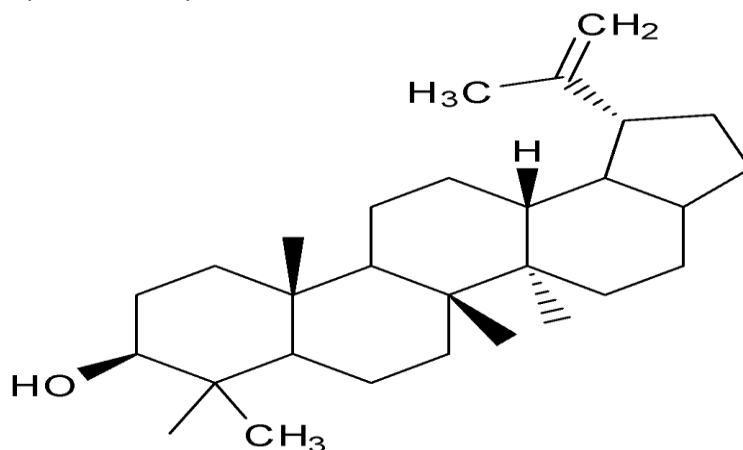
**Quadro 3** - Comparativo entre estruturas - derivados triterpênicos e o corticoide dexametasona



#### 2.4.2. Lupeol

O lupeol é um triterpeno pentacíclico do grupo lupano em que o hidrogênio na posição C3 é substituído por um grupo hidroxil (figura 7) (Sharma et al, 2020). Sua biossíntese ocorre no citosol pela via do mevalonato, sendo o 2,3-oxidoesqualeno um intermediário biossintético para triterpenos, esteroides e hormônios esteroides (Abdullah et al, 2022). É encontrado em diversas plantas medicinais e é conhecido por possuir inúmeras atividades biológicas, isso inclui anti-inflamação, antioxidante, anticancerígeno, antimicrobiano e antiprotozoário (Park et al, 2023).

Figura 7 - Estrutura química do Lupeol



Segundo dados da Literatura, o lupeol consegue aumentar os níveis de células T, citocinas Th1, NF- $\kappa$ B e genes da síntese do óxido nítrico contra infecções por *Leishmaniose donovani* (Kaur et al, 2019). Em outro estudo, verificou-se que o lupeol e a Dexametasona tiveram o mesmo efeito inibitório de níveis de citocina Th2 na asma brônquica em camundongos (Bae et al, 2023)

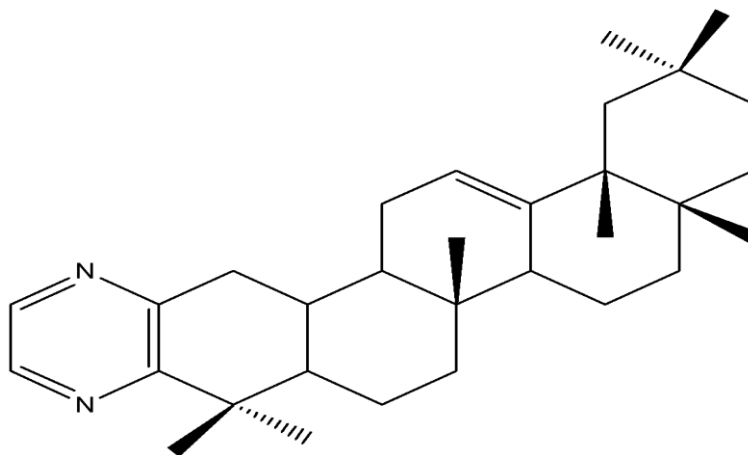
O lupeol modula a atividade anti-inflamatória principalmente por alterar citocinas th1/th2 associadas ao Nf- $\kappa$ B (Antus et al, 2021). Inibiu a produção citocinas pró inflamatórias em células epiteliais intestinais humanas (Das et al, 2023). Como também impediu a ligação de NF  $\kappa$ B ao DNA por meio de bloqueio da fosforilação de I $\kappa$ B $\alpha$  induzida por LPS em macrófagos (Fontana et al, 2022). Vasanth et al (2022) revelou que formulações fitoterápicas envolvendo Lupeol atenuaram a adipogênese por meio de controle progressivo de ciclo celular e aumento da captação de glicose nos adipócitos.

Por ser um composto considerado multi alvo, a pesquisa sobre o lupeol e seus derivados vem crescendo há mais de duas décadas, quando Geetha et al (1999) et al foram um dos primeiros a verificar a atividade biológica desses derivados em camundongos onde esses compostos demonstraram reduzir consideravelmente a expressão de citocinas pró-inflamatórias em macrófagos induzidos por LPS em comparação ao Lupeol (Kai et al, 2021)

Pratama et al (2023) realizou docking com modificações realizadas no C3 e C30 do lupeol, e concluiu que essas mudanças aumentaram a afinidade contra a ER- $\alpha$ , porém seus resíduos de aminoácidos estavam mais próximos do HER2, o que sugere alto potencial como terapia contra o câncer de mama.

Novos derivados foram planejados com modificações em C3 e C30 onde suas atividades citotóxicas e anti-inflamatórias foram avaliadas. O derivado palmitato de lupeol e 3 $\beta$ -palmitoiloxi-oleano-12-eno (**figura 8**) inibiram significativamente as linhas tumorais U251, MCF-7 e houve a diminuição da inflamação no edema da orelha do camundongo induzido por TPA (Fabiola et al, 2022).

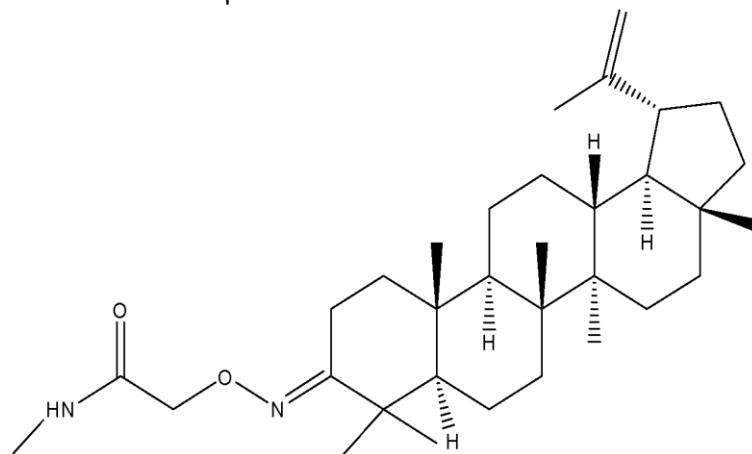
**Figura 8** - 3 $\beta$ -palmitoiloxi-oleano-12-eno



Outros derivados envolvendo triazóis e oxazóis foram planejados e sintetizados (**figura 9**), Kummari et al (2023) descreveram seus resultados apresentando os compostos que exibiram excelente atividade contra várias células cancerígenas, interrompendo o ciclo celular na fase S e induzem a apoptose em células CAL27. Além disso, esses compostos mostraram atividade anti-inflamatória

inibindo a secreção de citocinas IL-6 em células Raw 264.7 induzidas por LPS (Kummari et al, 2023b)

**Figura 9** - Exemplo de derivado do lupeol.



Malinowska et al (2019) planejou quatro derivados do lupeol (propionato, succinato, isonicotinato e acetilsalicilato), onde foram sintetizado e estudados tanto suas propriedades físico-químicas como suas atividades biológicas em comparação ao Lupeol. Os resultados sugeriram que as modificações estruturais melhoraram sua biodisponibilidade e atividade, não foram citotóxicos e estimularam a proliferação celular humana em até 30% a mais do que as amostras controle. Nesse sentido, modificações químicas no lupeol permitem obter compostos inéditos promissores para o tratamento da inflamação.