



UFAM

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS GRADUAÇÃO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**ESTUDO *IN SILICO* DO POTENCIAL FARMACOLÓGICO DE DERIVADOS DO
CARDANOL ISOLADO DA CASCA DA CASTANHA DE CAJU**

**KAROLINE DE OLIVEIRA DUTRA QUEIROZ
MESTRADO**

Manaus/AM
Setembro/2023

KAROLINE DE OLIVEIRA DUTRA QUEIROZ

**ESTUDO IN SILICO DO POTENCIAL FARMACOLÓGICO DE DERIVADOS DO
CARDANOL ISOLADO DA CASCA DA CASTANHA DE CAJU**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Amazonas exigida para o título de mestre em química com ênfase na linha pesquisa “Transformações de moléculas orgânicas”.

Orientador: Renyer Alves da Costa

Coorientador: Professor Dr. Alisson Meza Novais

Coorientador: Professor Dr. Afonso Duarte Leão de Souza

Manaus/AM
Setembro/2023

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Q3e Queiroz, Karoline de Oliveira Dutra
Estudo in silico do potencial farmacológico de derivados do cardanol isolado da casca da castanha do caju / Karoline de Oliveira Dutra Queiroz . 2023
79 f.: il. color; 31 cm.

Orientador: Renyer Alves Costa
Coorientador: Alisson Meza Novais
Coorientador: Afonso Duarte Leão de Souza
Dissertação (Mestrado em Química - Orgânica) - Universidade Federal do Amazonas.

1. Silico . 2. Potencial . 3. Farmacológico. 4. Derivados. 5. Cardanol. I. Costa, Renyer Alves. II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

ESTUDO IN SILICO DO POTENCIAL FARMACOLÓGICO DE DERIVADOS DO CARDANOL ISOLADO DA CASCA DA CASTANHA DE CAJÚ

KAROLINE DE OLIVEIRA DUTRA QUEIROZ

Aprovada em 15 de setembro de 2023

Banca examinadora

Documento assinado digitalmente
 **RENYER ALVES COSTA**
Data: 21/10/2023 15:23:23-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Professor Dr. Renyer Alves Costa (PPGQ/UFAM)
Presidente

Documento assinado digitalmente
 **MARCOS BATISTA MACHADO**
Data: 20/10/2023 15:07:00-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Professor Dr. Marcos Batista Machado (PPGQ/UFAM) Membro interno

Documento assinado digitalmente
 **ALBERTO DOS SANTOS MARQUES**
Data: 19/10/2023 10:51:34-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Professor Dr. Alberto dos Santos Marques (DQ/UFAM) Membro externo

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço a Deus, pelo seu cuidado e amor por mim e por ter me dado forças para nunca desistir, toda honra e glória a Ele.

Agradeço aos meus pais/avós Fátima e Eduardo, por me instruírem e acreditarem em mim, me incentivando a continuar e correr atrás dos meus objetivos sempre, cuidando das coisas quando eu não podia cuidar e precisava estudar, segurando minhas mãos nos momentos mais difíceis, essa conquista é para vocês.

Agradeço a minha mãe Eduarda Karine, que mesmo longe sempre me apoiou, de sua forma me deu força e sempre acreditou em mim, essa vitória também é sua.

Agradeço a minha tia Laura por ser minha terceira mãe, por todo incentivo relacionado aos estudos no decorrer da minha vida acadêmica, por me apoiar e permanecer sempre disposta a me ajudar.

Agradeço a minha avó Almira por no decorrer de todos os anos ter sido um grande exemplo de fé, a matriarca de nossa família e a pessoa que se estivesse aqui se orgulharia de tudo isso.

Agradeço ao meu namorado Eden por nos últimos meses ter se tornado meu grande incentivador, meu melhor amigo, a pessoa que mais me ouviu chorar e achar que não daria certo, mas que sempre me disse palavras de força e conforto. A você, meu amor, essas conquistas são nossas.

Agradeço a minha amiga Yasmin, que me ajudou desde o início dessa jornada, no laboratório, nas disciplinas e foi meu braço direito dentro da UFAM, uma pessoa com quem pude contar todas as vezes que precisei, conquistamos isso juntas.

Agradeço aos meus amigos Lucas Batista e Rosivaldo Ferreira, que mesmo distantes sempre me deram apoio nessa jornada, acreditando em mim e me dando palavras de força e incentivo.

Agradeço as minhas amigas Janiele e Ana Karoline e Jéssica por me aturarem esses últimos meses, por todos os dias me apoiarem, me ajudarem e me incentivarem a não desistir, o tempo é relativo, amizades não estão relacionadas com o tempo, obrigada pelo apoio de vocês.

Agradeço a meu orientador, professor Dr. Renyer Alves, pela orientação, paciência e apoio durante todo esse processo, pelo cuidado e por partilhar o conhecimento.

Agradeço ao coordenador professor Dr. Afonso Duarte, pelo apoio, ideias, conhecimento e amizade construída ao longo desses dois anos, o senhor foi uma peça essencial para a realização desse trabalho e no meu processo de formação.

Agradeço ao meu coorientador professor Dr. Alisson Meza, pela coorientação, pela paciência e partilha de conhecimento.

Agradeço aos professores do PPGQ, por agregarem todo conhecimento necessário para minha formação.

Agradeço a Dra Jamelah S. Al-Otaibi da universidade Princess Nourah Bint Abdulrahman pela parceria na parte de Dinâmica Molecular.

Ao aluno de iniciação científica Jailson, pela colaboração com a parte experimental do trabalho.

Agradeço a FAPEAM, pela bolsa de estudos concedida e a CAPES.

E a todos que de forma direta ou indireta contribuíram para obtenção desse título, meu muito obrigada.

“Nunca me deixes esquecer que tudo que
tenho, tudo que sou e o que vier a ser vem de
ti, Senhor (DIANTE DO TRONO, 2002)

RESUMO

O cajueiro, planta nativa do Brasil, que tem como pseudofruto o caju e como fruto a castanha de caju, apresenta um grande valor comercial. O que pouco se sabe é que da casca da castanha do caju, é extraído um óleo denominado líquido da casca de castanha de caju (LCC), e neste óleo estão presentes inúmeras substâncias fenólicas, entre elas o cardanol. A purificação do cardanol a partir do LCC técnico pode ser realizada de diversas maneiras, como por exemplo, a cromatografia em coluna, método escolhido para este trabalho. As atividades realizadas nesse projeto foram a purificação do cardanol a partir de LCC técnico e a avaliação *in silico* do cardanol e derivados do cardanol isolados do LCC. A partir do docking molecular e estudos *in silico* foram propostas novas moléculas bioativas por se tratar de uma abordagem que tem se mostrado uma ferramenta eficiente para indústria farmacêutica. Foram realizados o docking de dezesseis moléculas, cardanol e derivados, com ancoragem molecular em macromoléculas alvo como a Acetilcolinesterase, gliceraldeído-3-fosfato e receptor serotoninérgico 5- hidroxitriptamina, de modo a avaliar o quanto determinadas moléculas são compatíveis com o alvo ou sítio enzimático em termos de energia de ligação. As estrutura mais promissora foi selecionada para realização do cálculo de dinâmica molecular, que foi o caso da (8(3-hidroxifenil)octanoil)tirosina, foram realizadas também tentativas de síntese cujo a “proposta” de rota sintética foi apresentada neste trabalho. Os resultados do docking e dinâmica molecular possibilitam estudos posteriores das moléculas mais promissoras para síntese, avaliação de atividade biológica e estudos sobre possíveis fármacos.

Palavras-chave: *In silico*, Cardanol, docking molecular.

ABSTRACT

The cashew tree, a plant native to Brazil whose pseudo fruit is the cashew and the cashew nut, has great commercial value. What little is known is that an oil called cashew nut shell liquid (CNSL) is extracted from the cashew nut shell, and in this oil numerous phenolic substances are present, including cardanol. The purification of cardanol from technical can be performed in several ways, such as column chromatography, the method chosen for this work. The activities carried out in this project were the purification of cardanol from technical CNSL and the *in silico* evaluation of cardanol and cardanol derivatives isolated from the CNSL. Based on molecular docking and *in silico* studies, new bioactive molecules were proposed as it is an approach that has proven to be an efficient tool for the pharmaceutical industry. Sixteen molecules, cardanol and derivatives, were docked with molecular anchorage in target macromolecules such as acetylcholinesterase, glyceraldehyde-3-phosphate and serotoninergic receptor 5-hydroxytryptamine, in order to assess how compatible certain molecules are with the target or enzymatic site in terms of binding energy. The most promising structures were selected to carry out the molecular dynamics calculation, which was the case of (8(3-hydroxyphenyl)octanoyl)tyrosine, synthesis attempts were also carried out whose synthetic route was presented in this work. The results of docking and molecular dynamics allow further studies of the most promising molecules for synthesis, evaluation of biological activity and studies on possible drugs.

Keywords: *In silico*, Cardanol, molecular docking.

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

5-HT3A	5-Hidroxitriptamina
AcHe	Acetilcolinesterase
AcOET	Acetato de etila
Ala 275	Alanina 275
Arg 13	Arginina 13
Arg 169	Arginina 169
Arg 218	Arginina 218
Arg 234	Arginina 234
Arg 296	Arginina 296
Arg 65	Arginina 65
Arg13	Arginina 13
Asn 101	Asparagina 101
Asn 205	Asparagina 205
Asn 316	Asparagina 316
Asn 34	Asparagina 34
Asn 35	Asparagina 35
Asn 50	Asparagina 50
Asn 80	Asparagina 80
Asn 87	Asparagina 87
Asn 9	Asparagina 9
Asp 177	Aspártico 177
Asp 198	Aspártico 198
Asp 202	Aspártico 202
Asp 205	Aspártico 205
Asp 271	Aspártico 271
Asp 35	Aspártico 35
Asp 74	Aspártico 74
CCD	Cromatografia de Camada Delgada
CPS	Carga Pontual Simples

Cys 152	Cisteína 152
DM	Dinâmica molecular
GAPDH	Gliceraldeído-3-fosfato dehidrogenase
Gln 124	Glutamina 124
Gln 228	Glutamina 228
Glu 173	Glutâmico 173
Glu 186	Glutamina 186
Glu 317	Glutâmico 317
Glu 79	Glutâmico 79
Gly 10	Glicina 10
Gly 100	Glicina 100
Gly 120	Glicina 120
Gly 121	Glicina 121
Gly 122	Glicina 122
Gly 15	Glicina 15
H-bond	Ligação de Hidrogênio
His 179	Histidina 179
His 447	Histidina 447
Ile 14	Ilenina 14
Ile 201	Isoleucina 201
Ile 44	Isoleucina 44
LCC	Líquido da Casca da Castanha do Cajú
Lys	Lisina
MM	Mecânica Molecular
MPBSA	Área de Superfície de Poisson-Boltzmann de Mecânica Molecular
NPT	Pressão constante e temperatura constante
Phe 338	Fenilalanina 338
Phe 37	Fenilalanina 37
Phe 99	Fenilalanina 99
Pro 36	Prolina 36
RG	Raio de giração
RMSF	Flutuação quadrada media da raiz

RSMD	Desvio quadrado médio da raiz da proteína
SASA	Área de superfície acessível ao solvente
Ser 122	Serina 122
Ser 125	Serina 125
Ser 204	Serina 204
Ser 229	Serina 229
Ser 293	Serina 293
Ser 92	Serina 92
Ser 98	Serina 98
Thr 153	Treonina 153
Thr 154	Treonina 154
Thr 182	Treonina 182
Thr 211	Treonina 211
Thr 99	Treonina 99
Trp 156	Triptofano 156
Trp 168	Triptofano 168
Trp 286	Triptofano 286
Trp 63	Triptofano 63
Trp 86	Triptofano 86
Tyr 124	Tirosina 124
Tyr 126	Tirosina 126
Tyr 133	Tirosina 133
Tyr 207	Tirosina 207
Tyr 320	Tirosina 320
Tyr 337	Tirosina 337
Tyr 341	Tirosina 341
Tyr 72	Tirosina 72
Val 51	Valina 51

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Cajueiro.....	22
Figura 2. Principais produtores de caju no Brasil.....	22
Figura 3. Representação da castanha de caju (a) divisão anatômica da castanha (b) expansão do mesocarpo esponjoso.....	23
Figura 4. Líquido da casca da castanha de caju.....	24
Figura 5. Processo de descarboxilação do ácido anacárdico.....	24
Figura 6. Componentes do LCC.....	26
Figura 7. Principais sítios reacionais da molécula do cardanol.....	27
Figura 8. Aditivos antioxidantes organofosforados derivados do cardanol.....	29
Figura 9. Benzoxazolidinonas derivadas do cardanol.....	29
Figura 10. Formação do monômero benzoxazina e conversão a polibenzoxazina.....	29
Figura 11. Síntese de lactonas a partir da ciclocarbonilação do cardanol.....	30
Figura 12. Rivastigmina e análogos derivados do cardanol.....	30
Figura 13. Derivados do cardanol com atividade antitumoral.....	31
Figura 14. Derivados β -alcoxifenilacético do cardanol.....	31
Figura 15: Grid box.....	32
Figura 16: Receptor 5-Hidroxiptamina(6Y5A).....	35
Figura 17: Acetilcolinesterase (4EY7).....	35
Figura 18: O GAPDH (1U8F).....	36
Figura 19. Etapas do processo de purificação.....	40
Figura 20. Fluxograma com os procedimentos realizados DM.....	43
Figura 21. Espectro de RMN de ^1H para o cardanol.....	44
Figura 22. Espectro de RMN de ^1H para o cardanol apresentado na literatura	45
Figura 23. Cardanol e derivados testados no docking.....	46
Figura 24. (a) Ancoragem do cardanol com a 5-hidroxiptamina, (b) ancoragem 2D do cardanol com a 5-hidroxiptamina, (c) Ancoragem com a 5-hidroxiptamina mostrando a ligações de hidrogênio, doador e receptor.....	50
Figura 25. (a) Ancoragem da molécula 3a com a 5-hidroxiptamina, (b) ancoragem 2D da molécula 2a com a 5-hidroxiptamina, (c) Ancoragem da molécula 2a com a 5-hidroxiptamina mostrando a ligações de hidrogênio, doador e receptor.....	51
Figura 26. (a) Ancoragem da molécula 4b com a 5-hidroxiptamina, (b) ancoragem 2D da molécula 4b com a 5-hidroxiptamina, (c) Ancoragem da molécula 4b com a 5-hidroxiptamina mostrando a ligações de hidrogênio, doador e receptor.....	52
Figura 27. (a) Ancoragem da molécula 1c com a 5-hidroxiptamina, (b) ancoragem 2D da molécula 1c com a 5-hidroxiptamina, (c) Ancoragem da molécula 1c com a 5-hidroxiptamina mostrando a ligações de hidrogênio, doador e receptor.....	53
Figura 28. (a) Ancoragem da molécula 4c com a 5-hidroxiptamina, (b) ancoragem 2D da molécula 4c com a 5-hidroxiptamina, (c) Ancoragem da molécula 4c com a 5-hidroxiptamina mostrando a ligações de hidrogênio, doador e receptor.....	54

Figura 29. (a) Ancoragem da molécula 1d com a 5-hidroxitripamina, (b) ancoragem 2D da molécula 1d com a 5- hidroxitripamina, (c) Ancoragem da molécula 1d com a 5-hidroxitripitamina mostrando a ligações de hidrogênio, doador e receptor.....	55
Figura 30. (a) Ancoragem da molécula 2d com a 5-hidroxitripamina, (b) ancoragem 2D da molécula 2d com a 5-hidroxitripamina, (c) Ancoragem da molécula 2d com a 5-hidroxitripitamina mostrando a ligações de hidrogênio, doador e receptor.....	56
Figura 31. (a) Ancoragem da molécula 3d com a 5-hidroxitripamina, (b) ancoragem 2D da molécula 3d com a 5-hidroxitripamina, (c) Ancoragem da molécula 3d com a 5-hidroxitripitamina mostrando a ligações de hidrogênio, doador e receptor.....	57
Figura 32. (a) Ancoragem do cardanol com a acetilcolinesterase, (b) ancoragem 2D do cardanol com a acetilcolinesterase, (c) Ancoragem do cardanol com a acetilcolinesterase mostrando a ligações de hidrogênio, doadore receptor.....	58
Figura 33. (a) Ancoragem da molécula 4b com a acetilcolinesterase, (b) ancoragem 2D da molécula 4b com a acetilcolinesterase, (c) Ancoragem da moécua 4b com a acetilcolinesterase mostrando a ligações de hidrogênio, doador e receptor.....	59
Figura 34. (a) Ancoragem da molécula 2c com a acetilcolinesterase, (b) ancoragem 2D da molécula 2c com a acetilcolinesterase, (c) Ancoragem da moécua 2c com a acetilcolinesterase mostrando a ligações de hidrogênio, doador e receptor.....	60
Figura 35. (a) Ancoragem da molécula 4c com a acetilcolinesterase, (b) ancoragem 2D da molécula 4c com a acetilcolinesterase, (c) Ancoragem da moécua 4c com a acetilcolinesterase mostrando a ligações de hidrogênio, doador e receptor.....	61
Figura 36. (a) Ancoragem da molécula 3d com a acetilcolinesterase, (b) ancoragem 2D da molécula 3d com a acetilcolinesterase, (c) Ancoragem da moécua 3d com a acetilcolinesterase mostrando a ligações de hidrogênio, doador e receptor.....	62
Figura 37. (a) Ancoragem do cardanol com o gliceraldeído-3-fosfato, (b) ancoragem 2D do cardanol com o gliceraldeído-3-fosfato, (c) Ancoragem do cardanol com o gliceraldeído-3-fosfato mostrando a ligações de hidrogênio, doador e receptor.....	63
Figura 38. (a) Ancoragem da molécula 4c com o gliceraldeído-3-fosfato, (b) ancoragem 2D da molécula 4c com o gliceraldeído-3-fosfato, (c) Ancoragem da molécula 4c com o gliceraldeído-3-fosfato mostrando a ligações de hidrogênio, doador e receptor.....	64
Figura 39. (a) Ancoragem da molécula 3d com o gliceraldeído-3-fosfato, (b) ancoragem 2D da molécula 3d com o gliceraldeído-3-fosfato, (c) Ancoragem da molécula 3d com o gliceraldeído-3-fosfato mostrando a ligações de hidrogênio, doador e receptor.....	65
Figura 40. Análise AcHe MD: A RMSD, B RMSF, C Rg , D SASA, E Hbond e F PCA.....	67

Figura 41. Análise GAPHD MD: A RMSD, B RMSF, C Rg , D SASA, E Hbond e F PCA.....	68
Figura 42. Rota de síntese proposta para a (8(3hidroxifenil)octanoil)tirosina..	71

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	19
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	22
2.1 O LÍQUIDO DA CASCA DA CASTANHA DO CAJU	22
2.2 O CARDANOL	26
2.3 DERIVADOS DO CARDANOL	28
2.4 DOCKING MOLECULAR	31
2.5 DINÂMICA MOLECULAR	36
3. OBJETIVOS	39
3.1 OBJETIVO GERAL.....	39
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	39
4 MATERIAIS E MÉTODOS	40
4.1 PURIFICAÇÃO DO CARDANOL A PARTIR DO LCC	40
4.2 MODELAGEM DOS DERIVADOS DE CARDANOL	41
4.3 DOCKING MOLECULAR REALIZADO PARA CARDANOL E DERIVADOS	41
4.4 DINÂMICA MOLECULAR	42
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
5.1 PURIFICAÇÃO DO CARDANOL	44
5.2 DOCKING MOLECULAR PARA CARDANOL E DERIVADOS	46
5.2.1 Dockings realizados com a 5-hidroxitriptamina	49
5.2.1.1. Docking com o cardanol (1a)	49
5.2.1.2 Docking com (8Z,11Z)-3-(pentadeca-8,11-dienil)fenol (3a).....	51
5.2.1.3 Docking com (R)-6(O)-((2hidróxi-3-(3-pentadecilfenóxi)propil-β-D-glicopirano-6-il)propóxi)fenil)octanóico (4b).....	52
5.2.1.4 Docking com (S)-Ácido8-(3-(2-hidróxi-3-O-(α-D-glicopirano-6-il)propóxi)fenil)octanóico (1c).....	53
5.2.1.5 Docking com (R)-Ácido8-(3-(2-hidróxi-3-O-(β-D-glicopirano-6-il)propóxi)fenil)octanoico (4c).....	54
5.2.1.6 Docking com (8-(3-hidroxifenil)octanoil)glicina (1d).....	55
5.2.1.7 Docking com (8-(3-hidroxifenil)octanoil)glutamina (2d).....	56
5.2.1.8 Docking com (8-(3-hidroxifenil)octanoil)tirosina (3d)	57
5.2.2 .Dockings realizados com a acetilcolinesterase	58
5.2.2.1 Docking com o cardanol (1a)	58
5.2.2.2 Docking com (R)-6(O)-((2hidróxi-3-(3-pentadecilfenóxi)propil-β-D-glico piranose (4b)	59
5.2.2.3 Docking com (S)-Ácido8-(3-(2-hidróxi-3-O-(β-D-glicopirano-6-il)propóxi)fenil)octanóico (2c).....	60
5.2.2.4 Docking com (R)-Ácido8-(3-(2-hidróxi-3-O-(β-D-glicopirano-6-il)propóxi)fenil)octanoico (4c).....	61
5.2.2.5 Docking com da (8-(3-hidroxifenil)octanoil)tirosina (3d).....	62

5.2.3 Dockings com o Glicaraldeído-3-fosfato desidrogenase.....	63
5.2.3.1 Docking com o cardanol (1a)	63
5.2.3.2 Docking com (R)-Ácido8-(3-(2-hidróxi-3-O-(β-D-glicopirano-6-il)propóxi)fenil)octanóico(4c).....	64
5.2.3.3 Docking com a (8-(3-hidroxifenil)octanoil)tirosina (3d).....	65
5.3 RESULTADOS DA DINÂMICA MOLECULAR	66
5.4 DETERMINAÇÃO DA AFINIDADE DE LIGAÇÃO - MM – PBSA	69
5.5 PROPOSTA DE ROTA SINTÉTICA PARA A MOLÉCULA(8(3HIDROXIFENIL)OCTANOIL)TIROSINA (3d).....	70
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	72
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	73

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição química do LCC natural e do LCC técnico.....	25
Tabela 2. Valores de score em kcal/mol de acordo com os dockings de cada molécula.....	48

1. INTRODUÇÃO

O cajueiro, figura 1, pertencente à família Anacardiaceae, tem aparência exótica, seu nome científico é denominado *Anacardium occidentale L.* Seu pedúnculo, apreciado por sua suculência, é confundido com o fruto, sendo este conhecido popularmente como castanha de caju (MAZZETTO & LOMONACO, 2009). Originário da América Tropical ele inclui árvores e arbustos tropicais e subtropicais e ocupa no mundo uma faixa de 3,39 milhões de hectares e os principais produtos de expressão econômica são a amêndoa ou castanha e o Líquido da Casca da Castanha de Cajú (LCC) (OLIVEIRA, 2008). É na casca da castanha de caju que encontra-se o LCC, líquido escuro, quase preto, cáustico e inflamável. Na parte mais interna da castanha está localizada a amêndoa, que compõe a parte comestível do fruto, revestida por uma película avermelhada (NUNES, 2014). No Brasil, o Ceará é o maior produtor e exportador nacional de castanha de caju (MAZZETTO & LOMONACO, 2009).

O LCC compõe 25% do peso da castanha e é uma fonte natural de compostos fenólicos de cadeia longa e insaturada, sendo assim considerado uma das fontes mais ricas de lipídios não-isoprenoides (FAÚLA, 2016). O LCC é classificado em dois tipos, o LCC natural e o LCC técnico, classificação que se deve pela forma com a qual o líquido é extraído da castanha. O LCC técnico é produzido na indústria por descarboxilação térmica e em sua composição estão presentes o cardanol entre 70 e 75% de sua composição, o cardol entre 15 a 20% e traços de metilcardol. Para o LCC natural, extraído por solvente, encontram-se entre 60 a 65% de ácido anacárdico, 15 a 20% de cardol, 10% de cardanol e traços de metilcardol (CARIOCA et al., 2005). Para separação dos componentes do LCC técnico existem várias técnicas conhecidas, porém, em escala laboratorial o emprego da cromatografia em coluna permite a separação completa do cardanol dos demais componentes (MAZZETTO; LOMONACO, 2009).

Como o Brasil é um dos maiores produtores de caju, o cardanol é uma boa alternativa natural e fonte abundante e de baixo custo de substâncias fenólicas da petroquímica (compostos similares às estruturas descritas como eficientes agentes peptizantes de asfaltenos, funcionando como catalizadores na quebra de macromoléculas (CAMPANER et al, 2009; MOREIRA et al, 1998)

De acordo com a Organização para Cooperação e Desenvolvimento econômico (OCDE), uma das principais e importantes características do cardanol, que é uma matéria-prima renovável e um intermediário químico, é sua não-toxicidade (MAZZETTO et al, 2009). O cardanol é um componente monofenólico do LCC que possui insaturações. Se a molécula for submetida a uma reação de hidrogenação, saturando estas ligações, obtém-se o cardanol hidrogenado (3-pentadecilfenol ou 3-PDP). A partir dele e seus derivados pode-se obter substâncias com inúmeras aplicações como: aditivos antioxidantes, estabilizantes hidrorrepelentes, lubrificantes, polímeros e borrachas, extrator de metais, aditivos de lubricidade, retardantes de chama, além de acentuada atividade bactericida, fungicida e antitumoral (MWAIKAMBO e ANSELL, 2001; CASTRO DANTAS et al, 2003; PALVANNAN E BALAGURUNATHAN , 2012, MAZZETTO et al, 2009).

Para investigação de novas moléculas bioativas, os estudos *in silico* vêm se tornando cada vez mais importantes para a indústria farmacêutica, com intuito de prever moléculas bioativas e propriedades que podem ter probabilidade de serem candidatas nas fases de estudos clínicos (TAVARES et al., 2020).

No estudo utilizou-se o docking molecular, onde moléculas foram testadas para um determinado alvo molecular, a fim de avaliar candidatos moleculares que possuam melhor acomodação no sítio ativo do alvo. Os resultados dos dockings foram obtidos em termos de energia de ligação, dessa forma é analisada qual a energia de ligação necessária para que a provável molécula bioativa se ligue ao sítio ativo do alvo molecular selecionado. Sendo assim, as moléculas que apresentarem a menor quantidade de energia para ligar-se ao sítio ativo, são promissoras candidatas a apresentar o melhor resultado, em se tratando de atividade biológica (BARROS, 2015).

O docking molecular permite que diversas estruturas possam ser testadas como possíveis compostos bioativos e aquelas que se apresentarem mais promissoras passam para as etapas seguintes, isto é, de síntese e avaliação de atividades biológicas, o que acelera a fase inicial de desenvolvimento de um novo fármaco e otimiza tempo em laboratório, evitando o trabalho desnecessário de síntese e avaliação biológica de estruturas não promissoras (GUIDO et al., 2012).

A dinâmica molecular (molecular dynamics ou MD) é um estudo capaz de gerar informações sobre o comportamento dinâmico do sistema, em um nível microscópico, o que inclui a posição e a velocidade atômica. Esse método tem sido utilizado para a investigação

de estruturas e funções de biomoléculas e interações para o processo de planejamento de fármacos. (SCHLICK, 2010)

Nesse trabalho, o cardanol e derivados foram testados através do docking molecular e a partir dos resultados foi escolhida uma substância promissora para o cálculo de dinâmica molecular, além disso foram realizadas tentativas de síntese e os resultados podem ser utilizados para novas pesquisas e testes.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 O LÍQUIDO DA CASCA DA CASTANHA DO CAJU

O cajueiro (Figura 1) é uma planta nativa do Brasil que é encontrada em regiões tropicais e subtropicais, tendo destaque no litoral do Nordeste (Figura 2). Entre as diferentes espécies de cajueiro, a mais importante e facilmente encontrada é a *Anacardium occidentale*. O caju na verdade é o pseudofruto do cajueiro, desenvolvido a partir do pedúnculo cientificamente denominado de pedúnculo floral, após a polinização, com coloração entre o amarelo e vermelho. A amêndoa, que é o fruto verdadeiro, por sua vez tem maior significado comercial (MATOS, et al., 2008).



Figura 1. Cajueiro (NORÔES, 2019).

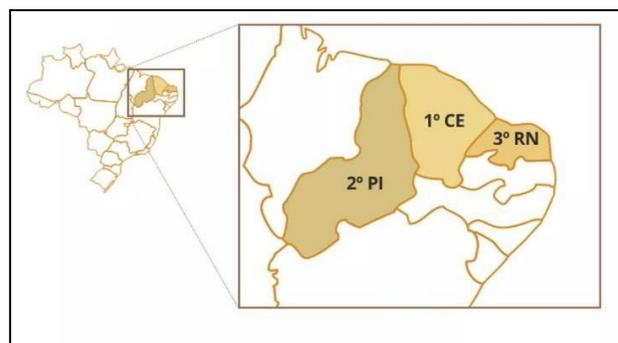


Figura 2. Principais produtores de caju no Brasil (<https://g1.globo.com>)

A castanha de caju é rígida e tem espessura de 1 e 2 mm, sendo uma das principais fontes naturais de compostos fenólicos. Na parte interna da castanha está localizada a amêndoa, constituída por dois cotilédones carnosos e oleosos, que representam a parte comestível do fruto (Figura 3) (NUNES, 2014).

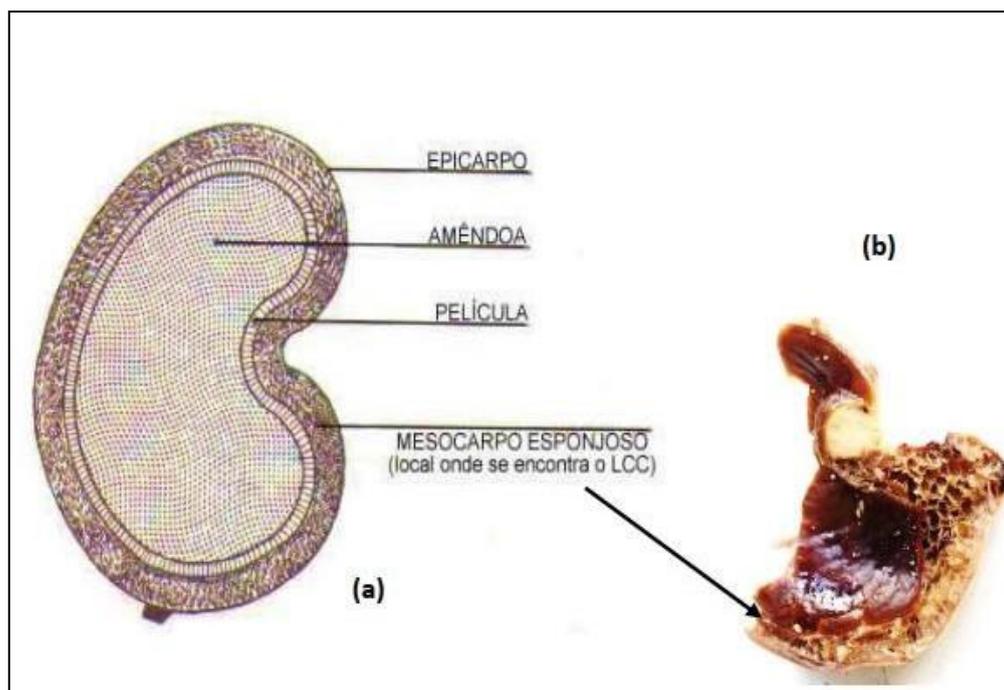


Figura 3. Representação da castanha de caju (a) divisão anatômica da castanha (b) expansão do mesocarpo esponjoso (FAÚLO, 2016)

O óleo encontrado na casca é um subproduto industrial denominado líquido da casca da castanha de caju (LCC) (Figura 4), conhecido internacionalmente como *cashew nut shell liquid* (CNSL), que se trata de uma mistura de compostos fenólicos com cadeia alquílica de quinze átomos de carbono na posição *meta* à hidroxila do anel aromático, podendo ter até três insaturações. Entre as características do LCC, estão a sua viscosidade e o fato de ser e cáustico (WASSERMAN; DAWSON, 1948; SANTAELLA, 1996; EDOGA et al., 2006).



Figura 4. Líquido da casca da castanha de caju (BRAGA,2020)

A extração do LCC pode ser realizada de diversas maneiras, seja a frio por um processo mecânico através de prensagem ou por imersão em banho quente do próprio LCC a 185-190°C, como é feito na maioria das vezes na indústria brasileira, podendo ser obtido neste processo 50% do líquido. A extração a quente produz um LCC diferente do extraído a frio, visto que, durante o aquecimento, o ácido anacárdico é transformado em cardanol. O LCC extraído a quente é denominado LCC técnico (MATOS et al, 2008). A descarboxilação do ácido anacárdico e conversão em cardanol é apresentada na figura 5.

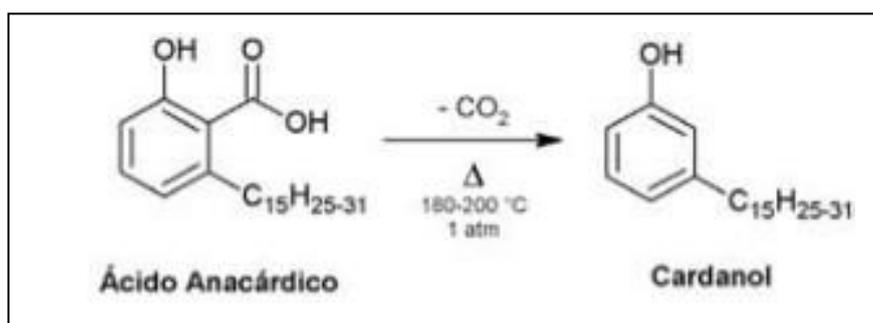


Figura 5. Processo de descarboxilação do ácido anacárdico (MAZZETTO E LOMONACO, 2009)

O LCC apresenta aproximadamente 25 % do peso da castanha e apesar do baixo valor agregado ele apresenta diversas aplicações na química fina, de acordo com a funcionalização dos produtos isolados. A composição química do LCC natural e técnico possuem grandes diferenças. O LCC natural contém uma grande quantidade de ácido anacárdico e não apresenta material polimérico em sua composição. Já o LCC técnico (Figura 6) possui um elevado percentual de cardanol e material polimérico, de acordo com a tabela 1 (MAZZETTO; LOMONACO, 2009).

Tabela 1. Composição química do LCC natural e do LCC técnico (MAZZETTO E LOMONACO, 2009)

Componentes Fenólicos	LCC natural %	LCC técnico %
Ácido Anacárdico	71,70 – 82,00	1,09 – 1,75
Cardanol	1,60 – 9,20	67,82 – 94,60
Cardol	13,80 – 20,10	3,80 – 18,86
2-metil cardol	1,65 – 3,90	1,20 – 4,10
Componentes minoritários	2,20	3,05 – 3,98
Material polimérico	---	0,34 – 21,63

Os principais componentes do LCC apresentam em sua estrutura grupos polares e apolares, o que permite que esses compostos fenólicos apresentem um comportamento tanto hidrofílico quanto hidrofóbico. Além disso, o comportamento anfipático destes compostos permite que eles atravessem membranas plasmáticas, o que potencializa suas funções biológicas (CORREIA et al., 2006). Observe os componentes do LCC na figura 6.

Tais compostos apresentam uma boa flexibilidade, o OH (reativo fenólico) oferece flexibilidade sintética. A cadeia meta alquílica não-isoprenóide é responsável pela anfifilicidade e característica lipídica. O anel aromático possibilita a interação com outras moléculas aromáticas e funcionalizações (BALACHANDRAN et al., 2013).

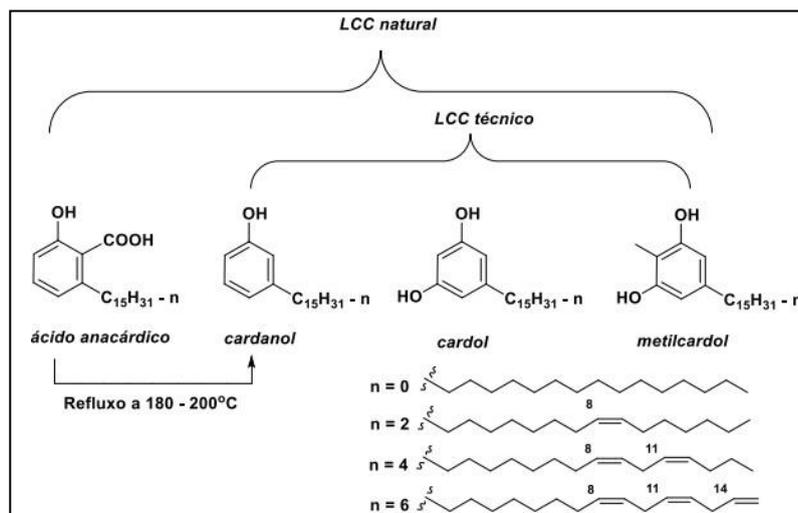


Figura 6. Componentes do LCC (FAÚLA, 2016)

2.2 O CARDANOL

Dentro do contexto industrial, o cardanol torna-se o componente do LCC técnico mais importante. Depois de separado, ele pode ser empregado de diversas maneiras, no setor de química fina por exemplo, onde o preço dos produtos finais são elevados, seja como aditivos, surfactantes, fármacos e pesticidas. Muitas transformações químicas podem ser realizadas no cardanol, a posição da dupla ligação permite inúmeras funcionalizações, assim como as usuais do anel fenólico (MAZZETTO; LOMONACO, 2009). Além disso, a hidroxila fenólica e a cadeia alquílica longa na posição *meta* em relação à hidroxila conferem à molécula um caráter anfipático, tornando o cardanol um ponto de partida promissor para obtenção de derivados diversificados, levando a uma biblioteca de compostos anfipáticos (BALACHANDRAN *et al.*, 2013). A figura 7 apresenta os sítios possíveis para funcionalização da molécula de cardanol com cadeia lateral do tipo trieno, mas que pode ser aplicada a todos os outros componentes, isto é, cardóis e ácidos anacárdicos

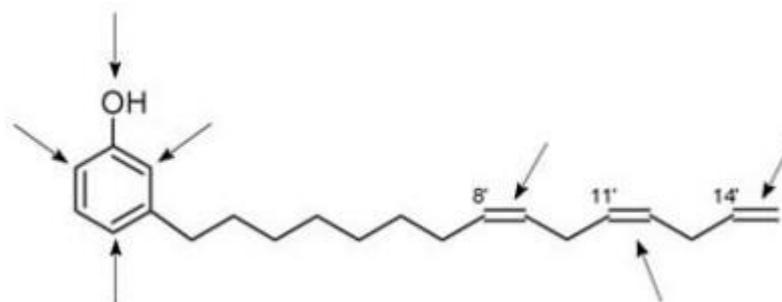


Figura 7. Principais sítios reacionais da molécula do cardanol (MAZZETTO E LOMONACO, 2009)

Na posição 8, reações de oxidação da ligação dupla *cis* carbono-carbono podem levar a formação do ácido, aldeído e álcool que poderão ser utilizados como pontos de partida na síntese de novos compostos. Um dos mais importantes métodos de clivagem oxidativa de ligações duplas é a ozonólise de alcenos, que leva à formação de ozonídeos que podem ser reduzidos a aldeídos, utilizando zinco em pó e ácido acético ou hidrogenação catalítica (GRAHAM, et al., 2002).

Entre outras características a serem destacadas, o cardanol não apresenta um cheiro agressivo, tem baixa volatilização e ponto de ebulição mais alto que os demais compostos fenólicos derivados do petróleo. Assim como os outros componentes do LCC, o cardanol também apresenta atividades biológicas interessantes, como a antimicrobiana, antioxidante e antitumoral. Em uma parceria com a Universidade Federal do Rio de Janeiro e Universidade de Brasília, estudos realizados recentemente com o cardanol e o ácido anacárdico deram origem a moléculas com poder de destruição de até 70% das células cancerígenas (câncer de mama) e de até 80% das células que provocam o câncer de boca (MAZZETTO; LOMONACO, 2009).

Os agentes fenólicos como o cardol, ácido anacárdico e cardanol, agem como aditivos, o que melhora o metabolismo. Sua atividade possibilita o rompimento dos lipídios da membrana celular das bactérias e mitocôndrias, causando desordem nas estruturas, tornando mais permeável o ambiente celular. Nesse processo a célula passa a gastar energia para tentar resistir ao ataque, (hidrofilicidade), a translocação de proteínas, a fosforilação e outras reações pelas enzimas, causando a morte da bactéria (AMORATI et al., 2013).

Para Maia (2015), os compostos fenólicos presentes do LCC, entre eles o cardol e o cardanol e seus derivados nitratos, alquilados e fosforados foram avaliados a partir de

estudos eletroquímicos, testes de oxidação acelerada e análise termogravimétrica que mostraram o desempenho e aplicação prática como aditivo antioxidante para biodíseis.

Tendo em vista que a purificação dos constituintes do LCC, e sendo o cardanol de grande interesse industrial, vários processos são desenvolvidos para sua obtenção, entretanto, em uma escala laboratorial, a cromatografia em coluna permite a separação completa do cardanol dos demais componentes do LCC técnico (MAZZETTO; LOMONACO, 2009).

2.3 DERIVADOS DO CARDANOL

A síntese de novos derivados do cardanol é importante para o desenvolvimento de aplicações do LCC na indústria, assim como para a produção de novas drogas. Algumas transformações químicas como a alquilação, acilação, tionação, nitração e halogenação têm sido avaliadas no que se diz respeito à funcionalização seletiva do cardanol e dos demais componentes do LCC (MAZZETTO; LOMONACO, 2009). O cardanol é utilizado na síntese de polímeros, vernizes, surfactantes, borrachas e antioxidantes automotivos (DANTAS et al., 2003; MAFFEZZOLI et al, 2004; PATEL, 2006). Segundo Dantas (2013), na literatura já estão descritos aditivos antioxidantes e multifuncionais derivados do cardanol. Além disso, Dantas descreveu uma série de antioxidantes fenólicos sintetizados a partir do cardanol alquilado se for por Friedel-Crafts

Tratando de aditivos e antioxidantes, encontram-se os derivados organofosforados. Os éteres de fosfato, na indústria química, possuem aplicação na formulação de óleos lubrificantes, atuando como antioxidantes com objetivo de decompor peróxidos e hidroperóxidos que são responsáveis pela degradação do óleo, atuando como aditivos. Alguns pesquisadores, como Mazzeto por exemplo, vêm estudando os derivados fosforados de cardanol e mostrando sua grande relevância, alguns exemplos encontram-se na figura 8 (FAÇANHA, 2007; RIOS et al, 2009; LOPES et al, 2008).

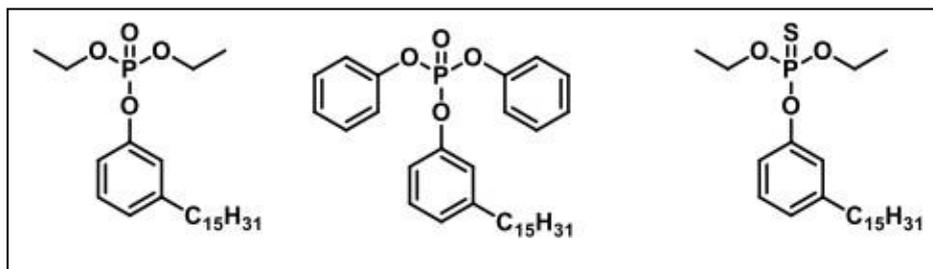


Figura 8. Aditivos antioxidantes organofosforados derivados do cardanol (Adaptado de FAÇANHA et al., 2009)

Attanasi e colaboradores (2006) sintetizaram uma série de moléculas nitradas derivadas do cardanol, as quais são semelhantes a benzoxazolidinona (figura 9), que é comercialmente utilizada na agricultura e na indústria de pesticidas.

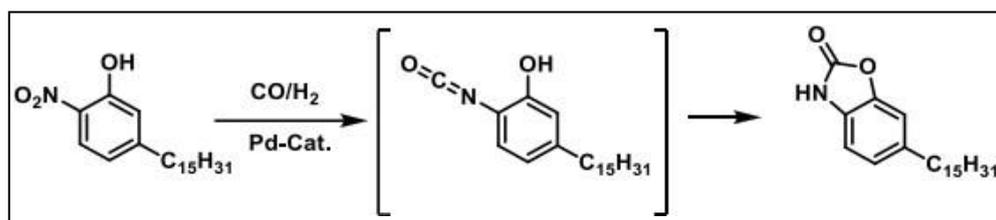


Figura 9. Benzoxazolidinonas derivadas do cardanol (ATTANASI, 2006)

Os pesquisadores Rao e Palanisamy (2011) sintetizaram um biocomposto derivado do cardanol pela reação de condensação de anilina e formaldeído com cardanol, cujo o resultado é apresentado na figura 10, um monômero benzoxazina mono funcional. Ao aquecer, ocorre uma clivagem que abre o anel benzoxazina, onde a cadeia aberta intermediária reage com outro monômero e quebra uma ligação C-H em *orto*. O anel benzeno trissubstituído se torna tetrassubstituído e leva à formação de polibenzoxazina.

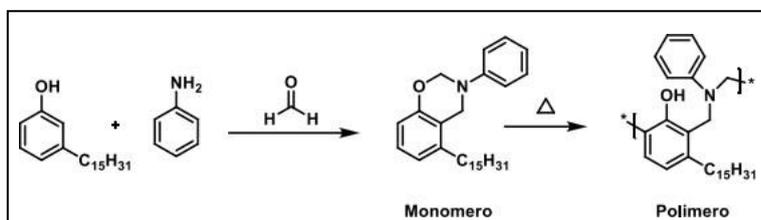


Figura 10. Formação do monômero benzoxazina e conversão a polibenzoxazina (RAO E PALANISAMY, 2011)

Lactonas e bis-lactonas foram preparadas a partir do cardanol através de métodos catalíticos de carbonilação, e derivados foram sintetizados a partir de reações de ciclo-

carbonilação utilizando acetato de paládio e 1,4 bis-(difenilfosfina) butano (dppb) como sistema catalítico (Figura 11) (MAZZETTO; LOMONACO, 2009).

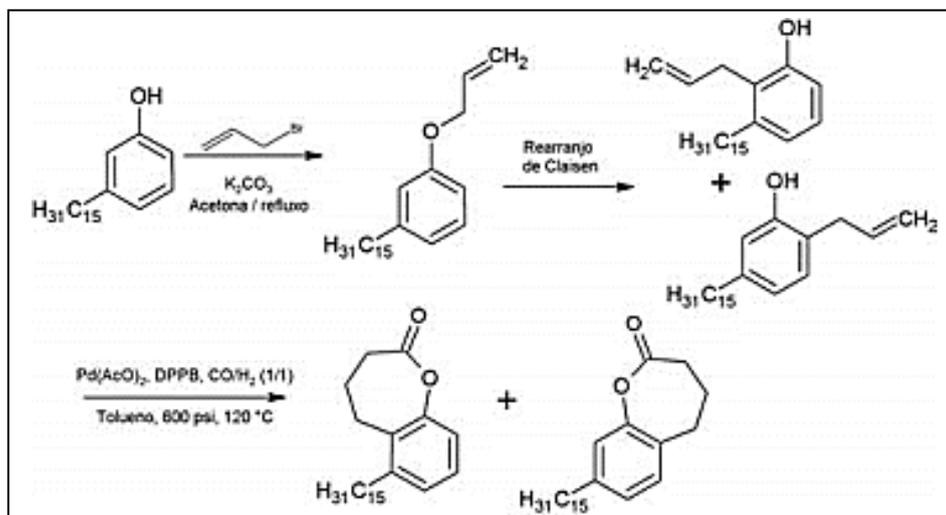


Figura 11. Síntese de lactonas a partir da ciclocarbonilação do cardanol (MAZZETTO E LOMONACO, 2009).

A partir do cardanol foram preparados análogos da rivastigmina, um fármaco importante para o tratamento da doença de Alzheimer (Figura 12) (IMBROSI; ARAÚJO, 2006).

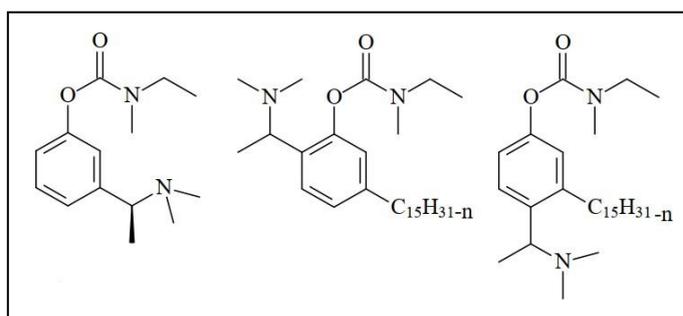


Figura 12. Rivastigmina e análogos derivados do cardanol (Adaptação de INBROSI, et al., 2008).

Derivados sintéticos do cardanol foram avaliados quanto ao potencial antitumoral em linhagens de células de ratos de fibroblastos. O cardanol metilado, o cardanol acetilado e o 2-*terc*-butilcardanol mostraram maiores atividades, apresentados respectivamente na figura 13 (SALADINO et al., 2000).

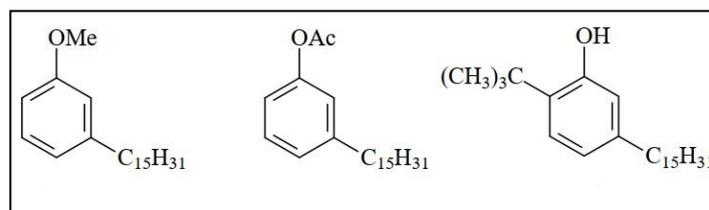


Figura 13. Derivados do cardanol com atividade antitumoral (SALADINO, et al., 2000)

Derivados β -alcoxilfenilacético do cardanol foram produzidos para o estudo do grupo hidrofílico de acordo com o perfil antibacteriano *in vivo* (Figura 14) (NASCENTE et al., 2006).

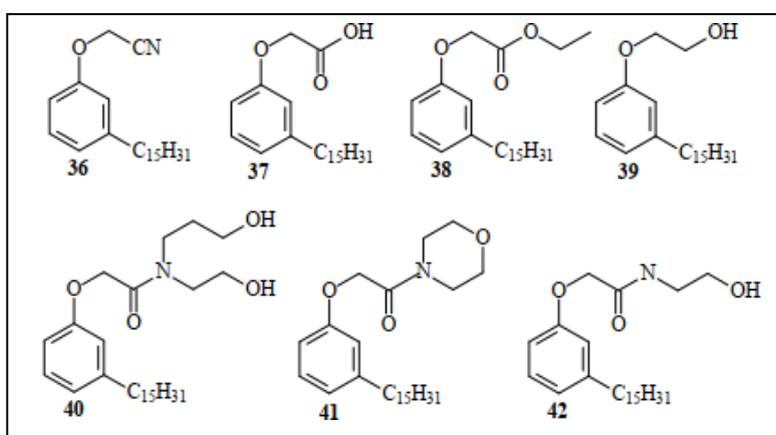


Figura 14. Derivados β -alcoxilfenilacético do cardanol Fonte: Adaptação de Nascente, *et al.*, 2006

2.4 DOCKING MOLECULAR

Para a investigação de novas moléculas bioativas, os estudos *in silico* vêm se mostrando cada vez mais importantes para a indústria farmacêutica para prever propriedades de absorção, distribuição, metabolismo, excreção, toxicidade e predição de moléculas com probabilidade de serem candidatas nas fases de desenvolvimento clínico (TAVARES et al., 2020).

O docking molecular é um método computacional que realiza o encaixe de um ligante, geralmente pequeno, em um alvo macromolecular, como a proteína. Esse método objetiva avaliar a interação entre o ligante e a macromolécula e é considerado uma ferramenta importante para a descoberta de novos fármacos (KITCHEN et al., 2004).

Entre as ferramentas básicas para os métodos de docking estão o algoritmo de busca conformacional e a função escore de energia. Os algoritmos de busca exploram o perfil de energia livre para encontrar o melhor modo de ligação (posicionamento) do ligante dentro do sítio ativo do receptor, enquanto as funções de escore avaliam a qualidade do modo de ligação e selecionam as conformações mais relevantes (GUEDES, et al., 2014). Observe a figura a seguir.

Diversas metodologias e pacotes de software disponíveis para o docking fornecem previsões aliadas ao bom desempenho e rapidez para realização de docking com baixo custo computacional. Para o docking, utilizam-se vários programas, inclusive o programa Autodock®, utilizado por apresentar resultados satisfatórios ao comparar dados *in silico* com dados experimentais. Ele utiliza caixas (Grid) para construção de uma grade de energia e dessa forma é realizado um pré-cálculo da energia de interação do ligante com o receptor, que serão utilizados pelo programa Autodock para determinar a energia total entre a macromolécula e o ligante. A energia de ligação obtida pelo programa Autodock se refere à diferença de energia entre a proteína e o ligante isolados e a energia do complexo proteína-ligante após o docking (KITCHEN et al., 2004). É possível visualizar um exemplo das caixas grid na figura 15.

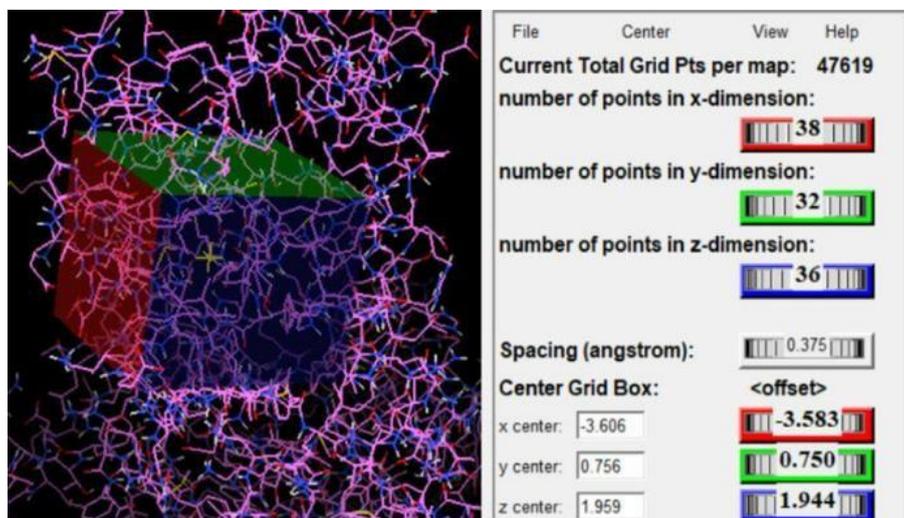


Figura 15: Grid box. Fonte: Research Gate

Para indicar as energias livre de ligação de pequenas moléculas em alvos macromoleculares, o AutoDock utiliza um campo de força de energia livre semiempírico. O

campo de força é baseado em um modelo termodinâmico que permite incorporação de interações intramoleculares na energia livre de ligação. Isto é feito avaliando energias por ambos estados, ligado e não ligado. Este método também incorpora um conjunto próprio de tipos de átomos e cargas (HUEY, 2007).

No cálculo de docking o processo de reconhecimento molecular é complexo, visto que o ligante sofre mudanças conformacionais que necessitam ser consideradas pelos algoritmos, isso explica porque moléculas menores possuem inúmeras conformações de baixa energia. Dessa forma, os algoritmos de docking se tornaram mais elaborados levando em consideração a flexibilidade do ligante o que leva a qualidade e precisão do método (MORGON; COUTINHO, 2007; RODRIGUES et al., 2012).

O algoritmo de construção incremental fragmentos do ligante são ancorados na macromolécula, um de cada vez, aumentando gradativamente, até ancorar todos os fragmentos no sítio ativo. O algoritmo de Monte Carlo gera uma conformação aleatória no sítio ativo com base em atividades específicas, como a energia, por exemplo. Os algoritmos genéticos (presente no AutoDock, utilizado nesse trabalho) levam em busca o princípio da populacional, definido por parâmetros que correspondem ao gene no algoritmo genético, denominado variáveis de estado que serão codificados em um cromossomo que avalia por função de aptidão, determinando uma energia específica (YADAVA, 2018).

É importante salientar que as macromoléculas que participam do docking exercem inúmeras funções biológicas e muitas delas realizam as suas funções por meio da interação com o ligante que resulta na formação de um complexo proteína-ligante, dependendo da afinidade e especificidade do ligante para com a proteína. Tal afinidade e especificidade entre o receptor e o ligante são dados através das interações intermoleculares, que são classificadas em muitas como ligações de hidrogênio, interações π - π , interações cátion- π , ligações covalentes e interações hidrofóbicas (GUYARNOV et al., 2016).

As ligações de hidrogênio são de natureza eletrostática, tendem a ser lineares para minimizar a repulsão entre as cargas parciais negativas ($-\delta$) dos átomos eletronegativos participantes. A ligação de hidrogênio ocorre entre um átomo de hidrogênio e uma base de Lewis (GUIMARÃES, 2012). As ligações de hidrogênio são consideradas uma das interações mais importantes, pois são fortes interações responsáveis por manter a estrutura das proteínas e outras macromoléculas, já as ligações covalentes possuem energias elevadas, por isso raramente desfeitas. Sendo assim, os fármacos que interagem por ligação covalente

inativam o sítio receptor ou inibem a ação das enzimas (BARREIRO; FRAGA, 2015). A interação π - π está relacionada com a interação não covalente entre anéis aromáticos, enquanto a interação cátion- π é uma interação não covalente entre a face de um sistema π rico em elétrons e um cátion adjacente, um exemplo são as cadeias de aminoácidos aromáticos que se ligam a espécies catiônicas como íons metálicos e cadeias laterais carregadas positivamente como Arg e Lys. As interações hidrofóbicas acontecem entre grupos apolares (interações de Van Der Waals). Embora as interações hidrofóbicas sejam relativamente fracas comparadas a outras já descritas, elas acabam tendo grande relevância no processo de complexação já que os sítios ativos de proteínas e ligantes são compostos em sua maioria por grupos hidrofóbicos (GUIMARÃES, 2012).

É possível conhecer a estrutura detalhada de diversos receptores biológicos, o que facilitou a organização em bancos de dados de estruturas biológicas como o Protein Data Bank (PDB) onde essas estruturas são ilustradas em 3D com acesso disponível para o público (MENG et al., 2011).

Desse modo é possível relacionar quais ligantes se mostram promissores para passarem para a etapa da síntese e avaliação de suas atividades biológicas, auxiliando na fase inicial para o desenvolvimento de um novo fármaco e evitando o trabalho desnecessário de síntese e avaliação biológica de substâncias não promissoras (BARROS, 2015).

Das macromoléculas, ou enzimas, escolhidas para o presente estudo, estão a 5-hidroxitriptamina, acetilcolinesterase e gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase, elas foram escolhidas após uma pesquisa realizada no Pass Activity que indicou o potencial de ligação de cada uma das moléculas estudadas com as respectivas macromoléculas e por estudos já realizados na literatura.

A 5-hidroxitriptamina (5-HT₃ A) é uma macromolécula pertencente a classe dos receptores serotoninérgicos, responsáveis por regular atividades do sistema nervoso. Suas diferentes formas são amplamente exploradas na indústria farmacêutica no controle de humor, depressão, ansiedade e comportamento psicótico (BRUNTON et al., 2010; MINNEMAN, 2006). Observe a representação dessa macromolécula na figura 16 a seguir.

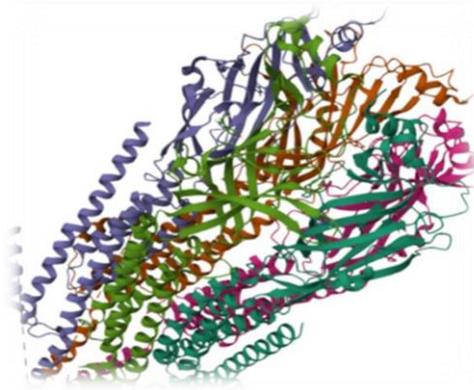


Figura 16:Receptor 5-Hidroxriptamina (6Y5A). Fonte: rcsb.org

A acetilcolinesterase (AcHe) é a enzima responsável por hidrolisar o neurotransmissor acetilcolina (ACh) nas sinapses colinérgicas. Existem vários fármacos que apresentam como alvo as sinapses colinérgicas, podendo agir na enzima AcHe inibindo-a ou reativando-a. Moléculas capazes de inibir ou reativar a enzima são potenciais fármacos para a doença de Alzheimer e como antídotos para intoxicação por organofosforados (ARAÚJO et al., 2016). A figura 17 apresenta a representação da acetilcolinesterase (4EY7).



Figura 17: Acetilcolinesterase (4EY7). Fonte: rcsb.org

A gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (GAPDH) é uma proteína multifuncional, e nos mamíferos está envolvida em diversos processos celulares, como apoptose, transportenuclear de RNA, replicação de DNA, entre outros. Evidências indicam que GAPDH pode estar envolvida em algumas doenças neurodegenerativas, como Alzheimer, Parkinson e Huntington, além de câncer de próstata e distúrbios metabólicos (GUIDO, 2008). O GAPDH(1U8F) é apresentado na figura 18.



Figura 18: O GAPDH (1U8F) Fonte: rcsb.org

2.5 DINÂMICA MOLECULAR

A dinâmica molecular (DM) é uma simulação computacional que estuda o comportamento de partículas em um sistema em função do tempo, utilizando equações do movimento, sendo assim uma das técnicas mais versáteis para o estudo de macromoléculas biológicas (NAMBA et al., 2008).

O conceito da Dinâmica Molecular foi proposto por Alder & Wainwright em 1959 para simular o comportamento mecânico de sistemas moleculares e a base teórica da DM engloba vários dos importantes resultados produzidos por grandes nomes da Mecânica como Euler, Hamilton, Lagrange e Newton (RAPAPORT, 1996). Nessa metodologia, as equações do movimento clássicas são integradas e utilizadas para determinar a aceleração, velocidade e posição temporal das partículas no sistema (OLIVEIRA, 2018).

A dinâmica molecular utiliza as equações do movimento primeiro propostas por Newton e depois por Hamilton e Lagrange para uma partícula, levando em consideração a segunda lei de Newton ou equação do movimento, onde F é a força exercida sobre a partícula, “ a ” é aceleração e “ m ” a massa (LIMA, et al., 2021):

$$F = m \cdot a \quad (1)$$

No entanto, para modelar macromoléculas considera-se a interação entre os átomos que compõem o sistema é possível quando utiliza-se parâmetros que constituem o campo de força, que nada mais é que uma função potencial que permite o cálculo da energia total do sistema utilizando da sua estrutura tridimensional (LIMA, et al., 2021)

Baseado na Mecânica Molecular (MM) as moléculas são como coleção de átomos descritos por forças Newtonianas ou forças harmônicas e elásticas e esse conjunto dos potenciais das partículas é conhecido como campo de força. O campo de força empírico ou função da energia potencial permite que toda energia do sistema $V(r)$ seja calculada tendo como partida uma estrutura tridimensional do sistema, essa energia total é descrita como a soma de vários termos de energia como o para átomos ligados (comprimentos de ligação e ângulos de ligação) e os átomos não ligados, constituídos pelas interações de Van Der Walls e de Coulomb. A representação de um campo de força é dada a seguir conforme a equação 2. Onde V_l representa a energia de estiramento com relação ao equilíbrio, V_θ representa a energia de deformação do ângulo, V_{vdW} representa a energia das interações de Van der Walls e V_{elec} representa a energia de atração e repulsão entre cargas (BROOCKS, 1998; GUNSTEREN, 1990).

$$V(r) = \sum V_l + \sum V_\theta + \sum V_{vdW} + \sum V_{elec} \quad (2)$$

Os campos de força que existem são independentes e possuem conjuntos de parâmetros específicos, alguns descrevem ligações de hidrogênio, ou acoplam oscilações entre ângulos e comprimentos de ligação para obtenção de uma maior concordância com o sistema vibracional. Para escolher um campo de força é necessário analisar o sistema a ser estudado e quais propriedades serão investigadas (BROOCKS, 1998)

Para a integração das equações do movimento é realizada através de algoritmos que são baseados nos métodos das diferenças finitas onde a integração é dividida em intervalos de tempo com intuito de simular os movimentos de menor frequência (as vezes vibrações de ligações). Um dos algoritmos mais utilizados para a integração das equações do movimento é o algoritmo de Verlet que vai utilizar das posições e alterações dos átomos em um tempo e as posições de passo anterior para obtenções de novas posições no tempo (NAMBA, et al., 2008).

Para as simulações de DM é necessário um controle de temperatura através do termostato de Berendsen que acopla o sistema a um banho térmico com temperatura fixa, o que vale para pressão, onde utiliza-se termostatos mais sofisticados, nesse caso as variáveis são substituídas pela pressão e a velocidade dos átomos pelas coordenadas atômicas. É importante também especificar as posições iniciais das partículas que constituem o sistema

evitando a sobreposição entre elas o que gera uma caixa de simulação, onde posteriormente o sistema deve ser minimizado visando encontrar um conjunto de coordenadas que diminuam a energia potencial do sistema, o que ajusta as posições atômicas, diminui as distorções nos ângulos de ligação e interação de van der Waals o que minimiza a força entre cada átomo do sistema e prepara a estrutura de partida para o início das simulações de DM (BERENDSEN, et al., 1984; PARRINELLO, 1981). Algumas simulações de DM, são realizadas em sistemas solvatados, um exemplo é quando as proteínas de um sistema é muito grande e é necessário utilizar modelos de solvatação implícita que considera a influência média do solvente estimando diretamente a energia livre de solvatação para que o soluto seja transferido em uma configuração fixa do vácuo para a solução (ROUX; SIMONSON, 1999; FERRERA, et al., 2002).

Portanto, esse método tem sido utilizado para a investigação de estruturas e funções de biomoléculas e interações para o processo de planejamento de fármacos. O método computacional é utilizado para avaliar as interações entre ligante e receptor para obtenção de resultados quantitativos (NAMBA et al., 2008). Essa interação dentro do estudo da química medicinal está presente desde a seleção e otimização de moléculas candidatas ou até para propor novas substâncias para uso clínico (GUIDO, 2008).

Sendo assim, a técnica de DM pode apresentar resultados confiáveis, tanto na fase inicial de identificação do ligante quanto nas fases mais avançadas de descoberta de novos fármacos (SLEDZ; CAFLISCH, 2018). Diminuem a energia potencial do sistema, o que ajusta as posições atômicas, diminui as distorções nos ângulos de ligação e interação de van der Waals o que minimiza a força entre cada átomo do sistema e prepara a estrutura de partida para o início das simulações de DM (BERENDSEN, et al., 1984; PARRINELLO, 1981).

Portanto, esse método tem sido utilizado para a investigação de estruturas e funções de biomoléculas e interações para o processo de planejamento de fármacos. O método computacional é utilizado para avaliar as interações entre ligante e receptor para obtenção de resultados quantitativos (NAMBA et al., 2008). Essa interação dentro do estudo da química medicinal está presente desde a seleção e otimização de moléculas candidatas ou até para propor novas substâncias para uso clínico (GUIDO, 2008).

Sendo assim, a técnica de DM pode apresentar resultados confiáveis, tanto na fase inicial de identificação do ligante quanto nas fases mais avançadas de descoberta de novos fármacos (SLEDZ; CAFLISCH, 2018).

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Utilizar estudos *in silico* para determinar o potencial farmacológico de derivados do cardanol obtidos a partir do LCC técnico.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Isolar o cardanol a partir do LCC através de cromatografia em coluna para estudos posteriores analisado de acordo com os resultados obtidos nesse trabalho;
- ✓ Realizar uma busca na literatura por proteínas a serem avaliadas como alvos em estudos biológicos do cardanol e derivados;
- ✓ Executar um screaming do cardanol e seus derivados através da técnica de docagem molecular;
- ✓ Avaliar quais os resultados mais promissores para o cálculo de dinâmica molecular;
- ✓ Realizar o cálculo de dinâmica molécula com a molécula que teve melhor atividade;
- ✓ Descrever as rotas sintéticas das tentativas de síntese de derivado promissor.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 PURIFICAÇÃO DO CARDANOL A PARTIR DO LCC

Utilizando um funil de Hirsch, adicionou-se uma pequena quantidade de sílica sobre a placa de vidro sinterizada do funil.

A seguir filtrou-se 10,3325 g de líquido da castanha do caju (LCC) técnico a vácuo. O acetato de etila utilizado como solvente de arraste foi removido por evaporação rotativa, após a filtração e obteve-se 10,3236 g de LCC técnico filtrado.

O LCC filtrado foi submetido a um processo de purificação por cromatografia líquida em coluna de sílica (230-400 Mech 140,79 g) utilizando-se como eluente o gradiente de hexano: AcOET (97:3 v/v) a (9:1 v/v) a figura 19 mostra as etapas desse processo.

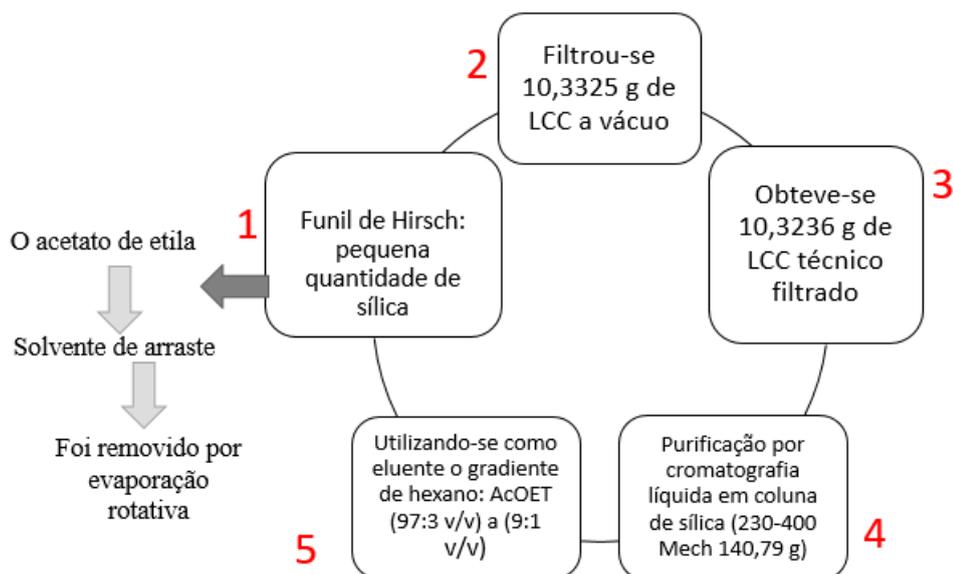


Figura 19. Etapas do processo de purificação

4.2 MODELAGEM DOS DERIVADOS DE CARDANOL

Para este trabalho, em parceria com o Professor Dr. Alisson Meza foram modelados computacionalmente derivados a partir da molécula de cardanol. A escolha aconteceu porque, o cardanol por si só é muito apolar o que talvez não o classificasse como um promisso fármaco, mas com a adição de blocos polares (açúcares e aminoácidos, por exemplo) era possível favorecer a realização de dockings.

Açúcares e aminoácidos são fontes renováveis de moléculas orgânicas, biomoléculas que podem possuir atividades biológicas interessantes. Além disso, esses blocos são baratos, fáceis de se obter em termo de viés econômico e ambiental.

4.3 DOCKING MOLECULAR REALIZADO PARA CARDANOL E DERIVADOS

Utilizando estruturas do cardanol e de derivados correlatados como base para a busca, foi realizada uma pesquisa de enzimas com potencial de ligação para cada molécula, no totalde 16 moléculas (incluindo os cardanóis e derivados) no Pass Activity (<http://www.way2drug.com/passonline/>) e na literatura científica.

Para este trabalho, em parceria com o Professor Dr. Alisson Meza foram modelados computacionalmente derivados a partir da molécula de cardanol. A escolha aconteceu porque, o cardanol por si só é muito apolar o que talvez não o classificasse como um promisso fármaco, mas com a adição de blocos polares (açúcares e aminoácidos, por exemplo) era possível favorecer a realização de dockings. Açúcares e aminoácidos são fontes renováveis de moléculas orgânicas, biomoléculas que podem possuir atividades biológicas interessantes. Além disso, esses blocos são baratos, fáceis de se obter em termo de viés econômico e ambiental.

Os cálculos de docagem molecular foram realizados com ajuda do software AutoDock Vina para avaliar a inibição das proteínas 5-hidroxitriptamina, acetilcolinesterase e gliceraldeído-3-fosfato dehidrogenase.

As estruturas cristalinas das proteínas em 3D de macromoléculas 5-hidroxitriptamina, acetilcolinesterase e gliceraldeído-3-fosfato dehidrogenase foram obtidasno Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/>) sob os códigos 6Y5A, 4EY7 e 1U8F, respectivamente.

Seguindo o protocolo do docking, foi realizada a remoção das moléculas de água

e inibidores, atribuindo cargas de Gasteiger e delimitando uma caixa de grade com as dimensões 26 Å x 26 Å x 26 Å para a 5-hidroxitriptamina, 28 Å x 28 Å x 28 Å para a acetilcolinesterase e 28 Å x 32 Å x 32 Å para o gliceraldeído-3-fosfato dehidrogenase, centrado no sítio de ligação de cada enzima com coordenadas $x=155,219$, $y=142,584$, $z=157,907$ (para 5-hidroxitriptamina); $x= -7,974$, $y= -44.890$, $z= 31,896$ (para a acetilcolinesterase) e $x=14,230$, $y= 25,674$ e $z=28,620$ (para o gliceraldeído-3-fosfato dehidrogenase).

4.4 DINÂMICA MOLECULAR

A simulação de dinâmica molecular (DM) é uma técnica computacional que usa as leis de movimento de Newton para estudar o movimento dos átomos em uma molécula. Neste caso, a simulação foi realizada na Arábia Saudita, em parceria com Dra Jamelah S. Al-Otaibi da universidade Princess Nourah Bint Abdulrahman e acompanhada diretamente pelo Brasil, visto que não possuímos o amparato computacional necessário para realizar esses cálculos. Para simulação foi usado o pacote de software Gromacs 2019, que é um software de simulação DM amplamente utilizado e bem estabelecido. O primeiro passo no processo de simulação foi a minimização do complexo proteína-ligante no vácuo. Isso foi feito usando o algoritmo de descida mais íngreme, que envolve o ajuste iterativo das coordenadas atômicas do complexo para minimizar a energia potencial do sistema. Após a minimização, o complexo foi solvatado em uma caixa periódica de água usando o modelo de água CPS (carga pontual simples). O modelo de água CPS é um modelo simples que representa as moléculas de água como uma única carga pontual e é frequentemente usado como ponto de partida para modelos de água mais complexos. O complexo também foi mantido em uma concentração NaCl de 0,15 M pela adição de números apropriados de íons sódio e cloreto. O complexo resultante foi então submetido a uma fase de equilíbrio NPT (pressão constante, temperatura constante), seguida por uma execução de produção por 100 ns (nanossegundos) no conjunto NPT. O método NPT é usado para simular sistemas a temperatura e pressão constantes, que são comumente encontrados em sistemas biológicos. Finalmente, a trajetória da simulação foi analisada usando várias ferramentas fornecidas pelo pacote de software Gromacs, incluindo o desvio quadrado médio da raiz da proteína (RMSD), flutuação quadrada média da raiz (RMSF), raio de giração (RG),

área de superfície acessível ao solvente (SASA) e ligação de hidrogênio (H-Bond). Essas análises permitem que os pesquisadores estudem várias propriedades estruturais e dinâmicas do sistema simulado, como sua forma geral, flexibilidade e interações com o solvente circundante (AL-OTAIBI, 2022).

Neste estudo, cálculos da Área de Superfície de Poisson-Boltzmann de Mecânica Molecular foram realizados nas simulações ligante-proteína. Os últimos 50 ns das trajetórias para cada complexo foram usados para o cálculo empregando a opção `g_MMPBSA`.

Os componentes de energia resultantes foram analisados para determinar a afinidade de ligação e as contribuições de diferentes termos de energia para a energia de ligação geral. Os resultados do cálculo MMPBSA foram utilizados para avaliar a ligação dos ligantes no alvo (AL-OTAIBI, et al., 2022).

Segue abaixo na figura 20 um fluxograma que mostra todas as etapas de forma simplificada.

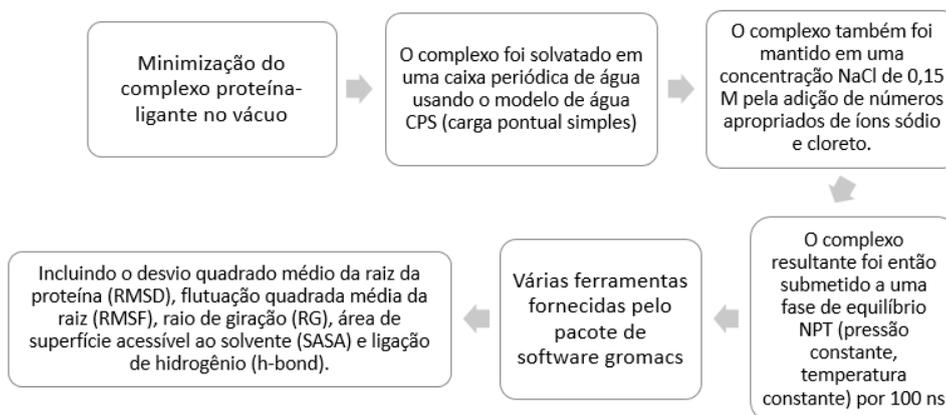


Figura 20: Fluxograma com os procedimentos realizados em DM

Acquisition Time (sec)	3.3328	Date	Nov 17 2016	Date Stamp	Nov 17 2016
File Name	D:\Users\Maria Lucia\Desktop\ESPECTROS DE RMN\2016_11_17_LUCILIA\Lucilia_1H_Cardanol_H.fidfid			Frequency (MHz)	300.07
Nucleus	¹ H	Number of Transients	32	Original Points Count	16000
Pulse Sequence	sZpu1	Receiver Gain	24.00	Solvent	CHLOROFORM-d
Spectrum Offset (Hz)	1800.4062	Spectrum Type	STANDARD	Sweep Width (Hz)	4600.77
				Temperature (degree C)	25.000

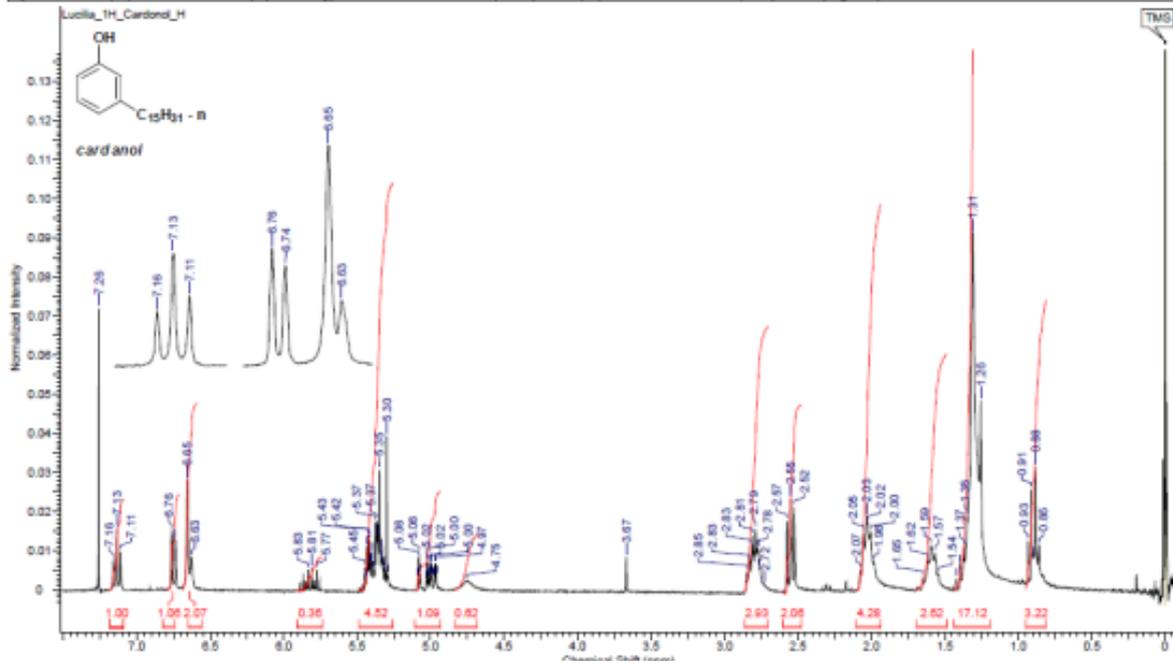


Figura 22. Espectro de RMN de ¹H para o cardanol apresentado na literatura (FAÚLA, 2016)

5.2 DOCKING MOLECULAR PARA CARDANOL E DERIVADOS

No docking molecular, múltiplas conformações e orientações da molécula são avaliadas e classificadas por um valor energético denominado score, determinado pelas funções matemáticas (KITCHEN et al.,2004).

Para esse estudo 16 moléculas (cardanol e derivados) foram testadas com três macromoléculas diferentes: 5-hidroxitriptamina, Acetilcolinesterase e Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase, ambas apresentaram resultados positivos ao serem testadas com as moléculas no pass active que indicou o potencial de ligação entre os ligantes e as macromoléculas. A estrutura das 16 moléculas estudadas são mostradas na imagem 21 a seguir.

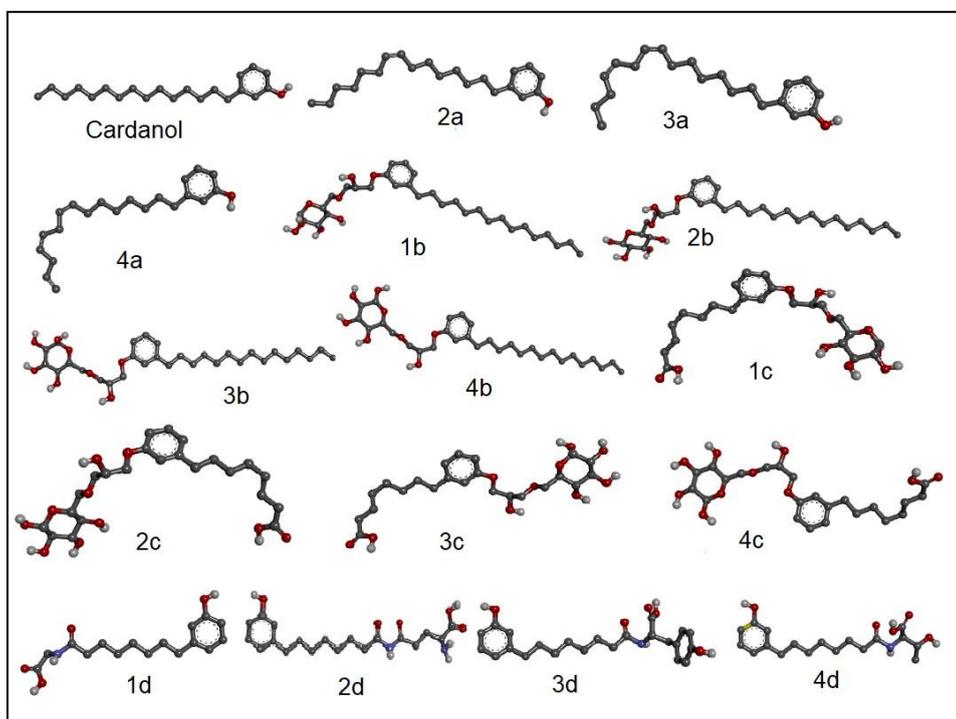


Figura 23: Cardanol e derivados testados no docking.

Entre todas as moléculas estudadas, algumas apresentaram resultados significativos quando observa-se seus escores comparando com o ligante original apresentado na literatura. Para essas moléculas foram atribuídos códigos com letras e números para facilitar a leitura

O (S)-Ácido 8-(3-(2-hidróxi-3-O-(α -D-glicopirano-6-il)propóxi)fenil)octanoico (1c) e a (8-(3-hidroxifenil)octanoil)glutamina (2d) apresentaram uma energia de escore igual a -8,6 kcal/mol quando testados com a 5-hidroxitriptamina, energia de ligação menor que a definida com o ligante original que é igual a -8,2 kcal/mol. Para o docking realizado com a 5-hidroxitriptamina, outros ligantes também apresentaram energias baixas, como o (S)-Ácido 8-(3-(2-hidróxi-3-O-(β -D-glicopirano-6-il)propóxi)fenil)octanoico (2c), com energia igual a -8,3 kcal/mol, o que já poderia ser esperado por conta da parte hidrofílica da molécula do ácido, observa-se que as energias para todos os ácidos estudados apresentaram baixa energia para esse receptor. Nos testes realizados com a acetilcolinesterase a (8-(3-hidroxifenil)octanoil)tirosina (3d) foi a molécula que apresentou menor valor de escore, -10 kcal/mol, e com isso o melhor resultado, quando comparado com o escore do ligante original que é igual a -12,0 kcal/mol. Outro derivado do cardanol de baixa energia é o (R)-6(O)-((2-hidróxi-3-(3-pentadecilfenóxi)propil- β -D-glicopirano) com energia igual a -9,5 (4b) kcal/mol.

Por fim, para o gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase os resultados a (8-(3-hidroxifenil)octanoil)tirosina (3d) apresentou o menor escore entre todos os derivados do cardanol testados, de -8,3 kcal/mol, enquanto o ligante original apresenta o escore igual a -11,2 kcal/mol. Para esta enzima, a outra molécula de menor energia é o (R)-Ácido 8-(3-(2-hidróxi-3-O-(β -D-glicopirano-6-il)propóxi)fenil)octanoico (4c)

O receptor 5-hidroxitriptamina é quem apresenta nesse estudo as menores energias, em seguida a acetilcolinesterase e por último o gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase.

A molécula (8-(3-hidroxifenil)octanoil)tirosina (3d) foi a que para as três macromoléculas testadas obteve o melhor resultado, sendo então considerada a molécula promissora para a simulação de dinâmica molecular.

Os valores de escore para cada molécula em comparação com o valor de escore do docking do ligante original (inibidor da enzima utilizado como parâmetro) estão apresentados na tabela 2, dada a seguir.

Tabela 2: Valores de score em kcal/mol de acordo com os dockings de cada molécula

Moléculas ligantes	Símbolo	(5-H3A)	AcHe	GAPDH
Ligante original	Lig	-8,2	-12,0	-11,2
Cardanol	1a	-7,0	-7,8	-6,1
(8Z)-3-(8-pentadecenil)fenol	2a	-7,3	-8,3	-6,2
(8Z, 11Z)-3-(pentadeca-8,11-dienil)fenol	3a	-7,8	-8,4	-6,5
(8Z, 11Z, 14Z)-3-(pentadeca-8,11,14-trienil) fenol	4a	-7,1	-8,4	-6,4
(S) - 6(O)-((2 hidróxi-3 –(3-pentadecilfenóxi) propil- α -D-glicopiranoose	1b	-7,3	-8,9	-6,7
(S) – 6(O)-((2 hidróxi-3 –(3-pentadecilfenóxi) propil- β -D-glicopiranoose	2b	-7,8	-8,8	-7,4
(R) – 6(O)-((2 hidróxi-3 –(3-pentadecilfenóxi) propil- α -D-glicopiranoose	3b	-7,4	-8,6	-6,5
(R) – 6(O)-((2 hidróxi-3 –(3-pentadecilfenóxi) propil- β -D-glicopiranoose	4b	-8,0	-9,5	-6,7
(S)- Ácido 8-(3-(2-hidróxi-3-O-(α -D-glicopirano-6-il)propóxi)fenil)octanoico	1c	-8,6	-9,1	-6,9
(S)- Ácido 8-(3-(2-hidróxi-3-O-(β -D-glicopirano-6-il)propóxi)fenil)octanoico	2c	-8,3	-9,4	-7,4
(R)- Ácido 8-(3-(2-hidróxi-3-O-(α -D-glicopirano-6-il)propóxi)fenil)octanoico	3c	-8,2	-8,9	-7,4
(R)- Ácido 8-(3-(2-hidróxi-3-O-(β -D-glicopirano-6-il)propóxi)fenil)octanoico	4c	-8,3	-9,2	-7,6
(8-(3-hidroxifenil)octanoil)glicina	1d	-8,4	-8,7	-6,9
(8-(3-hidroxifenil)octanoil)glutamina	2d	-8,6	-8,3	-7,1
(8-(3-hidroxifenil)octanoil)tirosina	3d	-8,2	-10,3	-8,3
(8-(3-hidroxifenil)octanoil)treonina	4d	-7,8	-9,0	-7,0

De acordo com os dockings e as simulações de ancoragem nos sítios ativos, serão apresentadas a seguir os melhores resultados para as três macromoléculas escolhida

5.2.1 Dockings realizados com a 5-hidroxitriptamina

5.2.1.1. Docking com o cardanol (1a)

A análise revelou que o cardanol ancorou no sítio ativo em interação (π - π) empilhada com distâncias de 5,6 Å e 4,80 Å. A Trp 63 interage com o anel aromático com distância de 4,51 Å e com a cadeia lateral com distância de 5,10 Å. A Tyr 207 interage com o anel aromático com distância de 5,05 Å e de 4,53 Å com a cadeia lateral, já a Tyr 126 interage com uma distância de 5,09 Å com a cadeia lateral e a Arg 169 interage com uma distância de 4,95 Å com a extremidade da cadeia lateral. A Ile 44 interage com a distância de 5,42 Å com a parte central da cadeia lateral e Ile 201 é a que mais interage com a cadeia lateral em vários pontos com distâncias de 5,24 Å, 5,16 Å, 4,43 Å e 4,00 Å respectivamente. As interações π alquil ocorrem entre elétrons π e um grupo alquil. O acoplamento do cardanol com a 5-hidroxitriptamina apresenta interações do tipo hidrofóbicas e mais interações com a cadeia lateral do que com o próprio anel, a conformação de menor energia é apresentada na figura 24. A energia de escore para o cardanol foi baixa com valor de -7,0 kcal/mol, o que não é o melhor dos resultados devido a ausência de interações de hidrogênio, por exemplo.

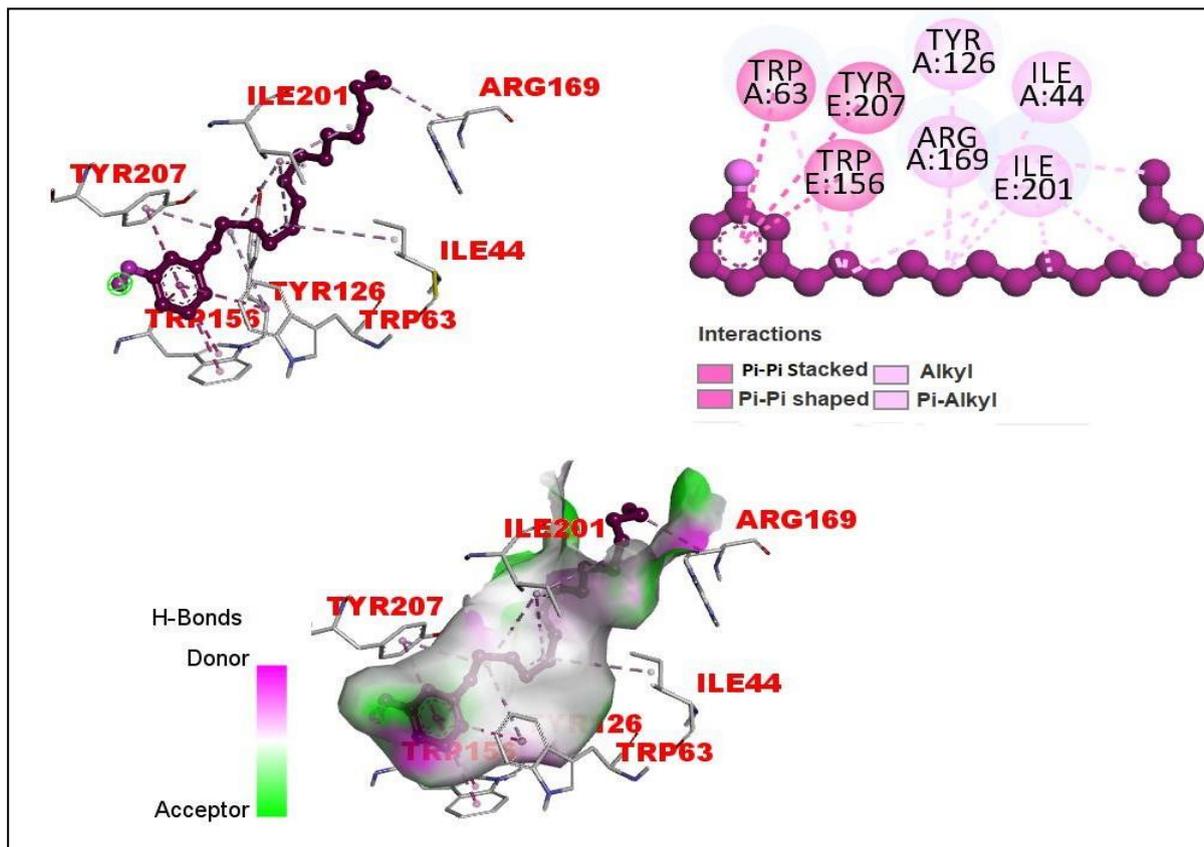


Figura 24. (a) Ancoragem do cardanol com a 5-hidroxitriptamina, (b) ancoragem 2D do cardanol com a 5-hidroxiipamina, (c) Ancoragem com a 5-hidroxitriptamina mostrando a ligações de hidrogênio, doador e receptor

5.2.1.2 Docking com (8Z,11Z)-3-(pentadeca-8,11-dienil)fenol (3a)

Para a molécula 3a a energia de acoplamento diminui com relação ao cardanol (-7,8 kcal/mol), a conformação muda e aumenta o número de interações. Uma interação π - σ com a Tyr 207 é observada, a distância é de 5,27 Å com relação ao anel aromático da molécula, 3,73 Å e 3,05 Å com a cadeia lateral, essa interação com a cadeia lateral é mais efetiva que nas moléculas anteriores. A interação com a Arg 65 não aparece com o cardanol e apresenta distância de 4,6 Å com a cadeia lateral. O cardanol e as moléculas seguintes possuem estruturas parecidas que até aqui se diferenciam pela presença de insaturações, e mais uma vez observa-se uma diferente conformação no encaixe, tudo isso somado resulta em uma energia de escore menor, como pode ser observado na tabela 2.

As interações de empilhamento e π - π em forma de T acontecem com Trp 63 e Trp 156 com o anel aromático. Interações do tipo alquil e π alquil também podem ser observadas com Ile 201, Ile 44, Tyr 126 e Arg 65, como observado na figura 25.

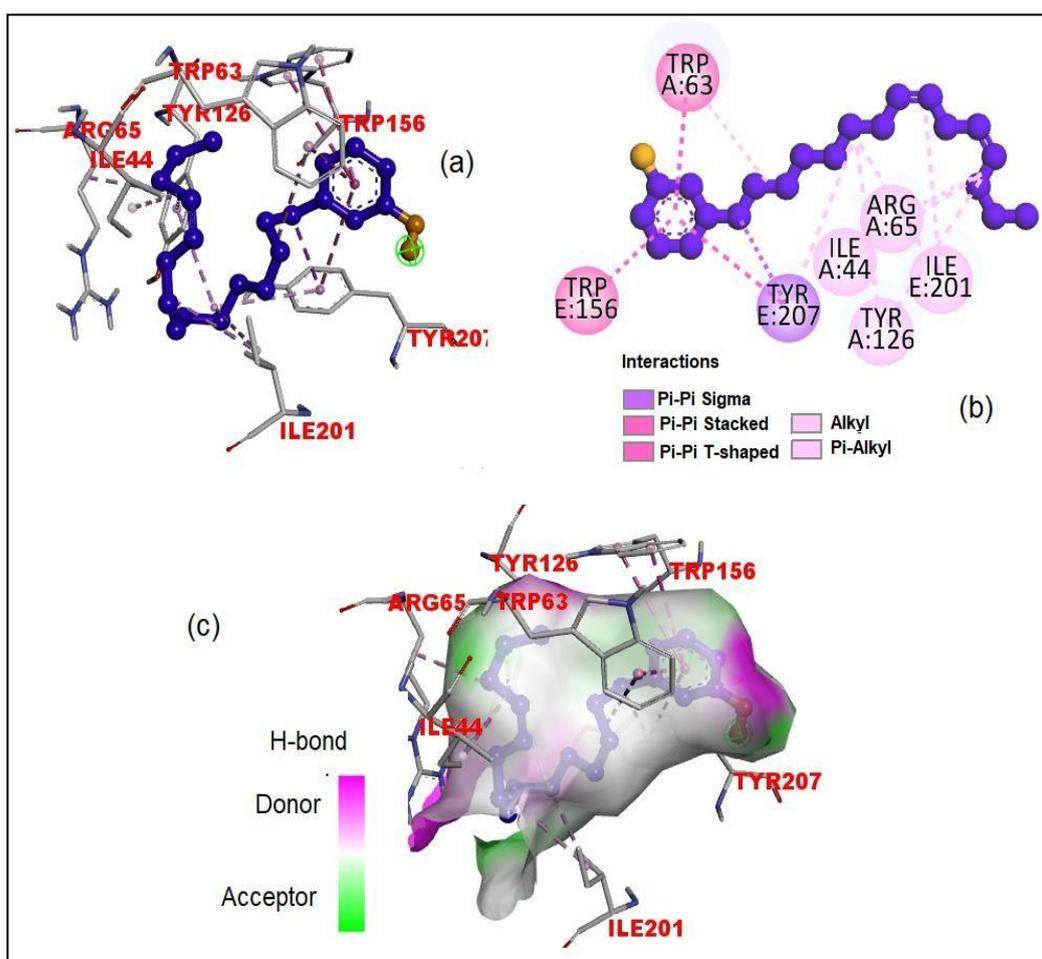


Figura 25. (a) Ancoragem da molécula 3a com a 5-hidroxitriptamina, (b) ancoragem 2D da molécula 3a com a 5-hidroxiipamina, (c) Ancoragem da molécula 3a com a 5-hidroxitriptamina mostrando a ligações de hidrogênio, doador e receptor.

5.2.1.3 Docking com (R)-6(O)-((2-hidróxi-3-(3-pentadecilfenóxi)propil-β-D-glicopiranosose (4b)

A molécula 4b apresenta interação infavorável doador-doador entre hidrogênios da hidroxila do anel (que não contribuem com o cálculo do docking) com a Trp 168, com distância de 2,09 Å e com a Tyr 126 com distância de 1,6 Å. Uma interação eletrostática do tipo π-cátion da Arg 169 com o anel aromático com distância de 3,65 Å também pode ser observada, além das ligações de hidrogênio, as mais importantes nessa interação que diminui um pouco mais a energia comparada ao cardanol (-8,0 Kcal/mol) com Asn 205, Asp 202 e Gln 124 na extremidade dos anéis. Outras interações hidrofóbicas como alquil e π-alquil podem ser notadas na longa cadeia próxima ao anel aromático (figura 26).

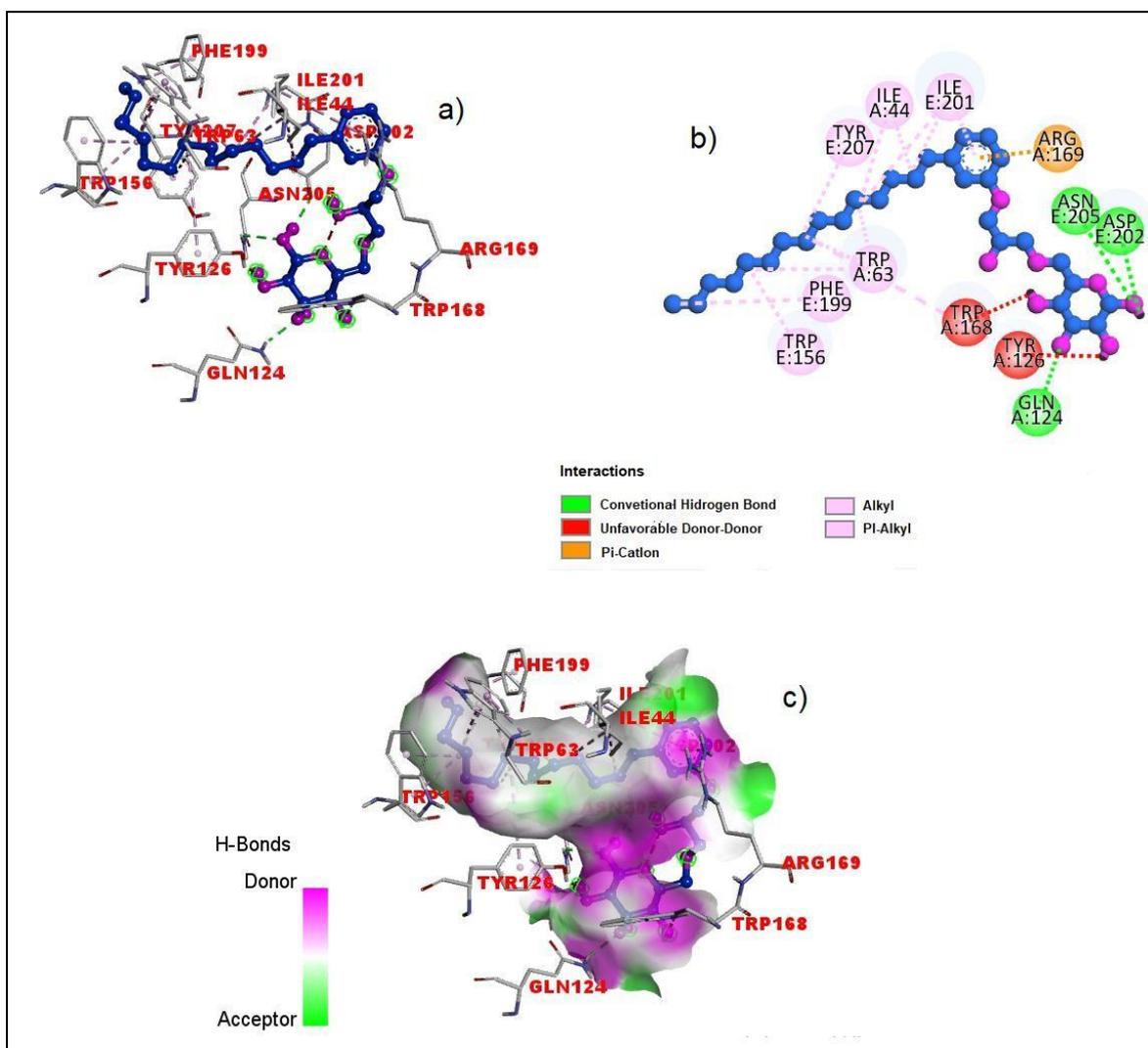


Figura 26. (a) Ancoragem da molécula 4b com a 5-hidroxitriptamina, (b) ancoragem 2D da molécula 4b com a 5-hidroxiipamina, (c) Ancoragem da molécula 4b com a 5-hidroxitriptamina mostrando as ligações de hidrogênio, doador e receptor

5.2.1.4 Docking com (S)-Ácido8-(3-(2-hidróxi-3-O-(α -D-glicopirano-6-il)propóxi)fenil)octanóico (1c)

Para a molécula 1c temos uma energia muito menor, de -8,6 Kcal/mol, menor que a do ligante original, o que nos afirma que ela é um possível melhor inibidor para a 5-hidroxitriptamina. Nota-se cinco ligações de hidrogênio, a primeira entre a Asp 42 e uma hidroxila da cadeia com distância de 2,98 Å, a segunda da Asn 101 com o oxigênio da carbonila do ácido e a terceira da Arg 65 com três partes da molécula: o oxigênio de uma hidroxila na cadeia, um oxigênio entre carbonos na cadeia e por fim com o oxigênio da hidroxila do anel, com distâncias de 2,48 Å, 2,98 Å e 2,68 Å respectivamente. Uma ligação infavorável doador - doador com a trp 168 com o hidrogênio da hidroxila do anel com distância de 2,38 Å. Outras interações hidrofóbicas ocorrem próximas ao anel aromático. O ancoramento da molécula 1c se mostra efetivo (figura 27) o que explica a baixa energia de score, as ligações de hidrogênio na parte hidrofílica da molécula são fortes e justificam o resultado.

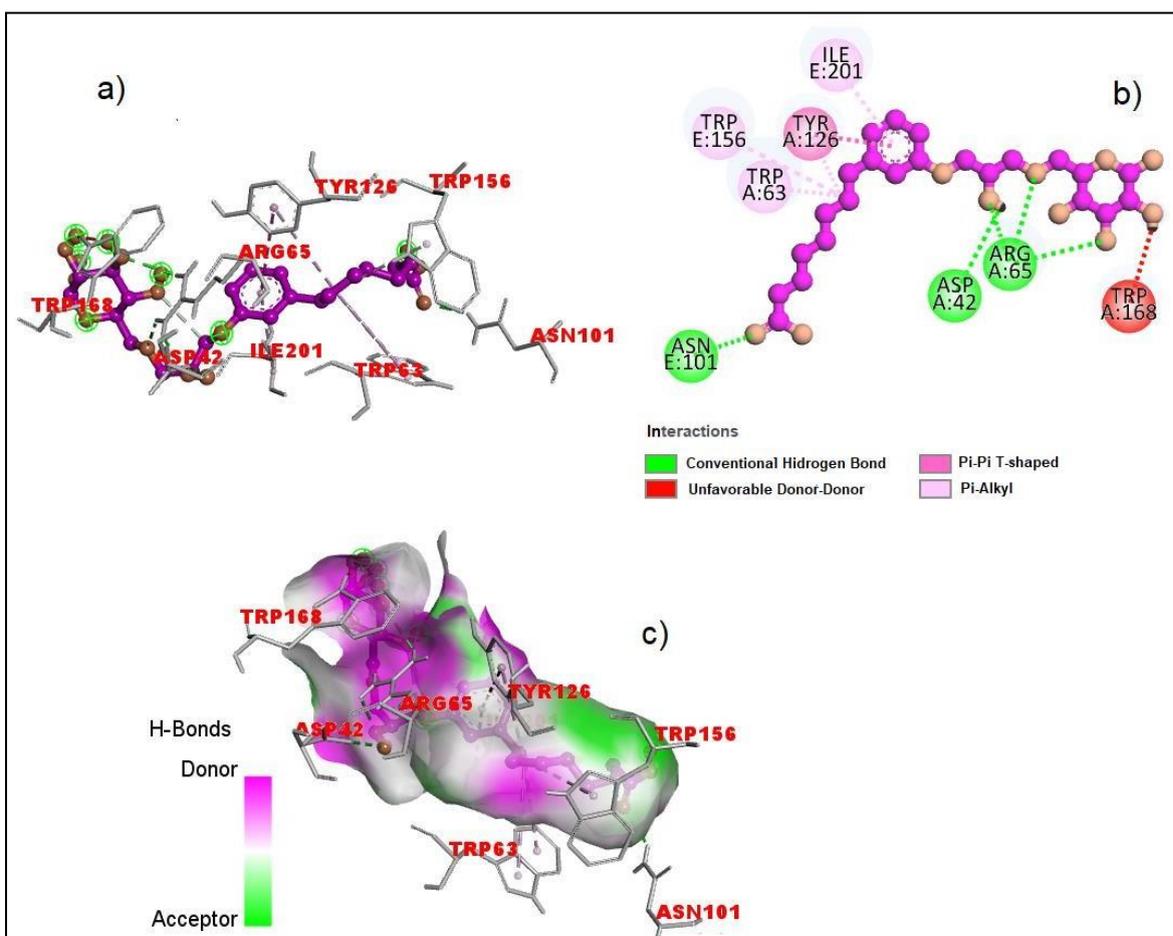


Figura 27.: (a) Ancoragem da molécula 1c com a 5-hidroxitriptamina, (b) ancoragem 2D da molécula 1c com a 5-hidroxitriptamina, (c) Ancoragem da molécula 1c com a 5-hidroxitriptamina mostrando as ligações de hidrogênio, doador e receptor.

5.2.1.5 Docking com (R)-Ácido8-(3-(2-hidróxi-3-O-(β-D-glicopirano-6-il)propóxi)fenil)octanoico (4c)

A molécula 4c possui a energia de escore igual a -8,3 Kcal/mol, sua conformação no sítio ativo da macromolécula foi eficaz, com três interações de hidrogênio e duas interações de hidrogênio mais próximas entre si. Os resíduos Asp 202 e Trp 168 interagem com hidrogênios da hidroxila do anel com distâncias de 2,12 e 2,77 Å respectivamente. O resíduo Arg 65 interage com duas partes da molécula, com o oxigênio entre carbonos na cadeia e com o oxigênio de uma hidroxila do anel com distâncias iguais a 2,53 Å e 2,57 Å respectivamente.

São apresentadas outras interações como ligação carbono hidrogênio da Arg 169 com distância de 3,5 Å, assim como a presença de desfavorável doador-doador e desfavorável aceitador com Asn 101 e Thr 154, sendo a interação com Asn 101 mais curta e mais efetiva com distância igual a 1,29 Å. As outras interações são as interações hidrofóbicas π-álquil e π-π em forma de T, conforme a figura 28.

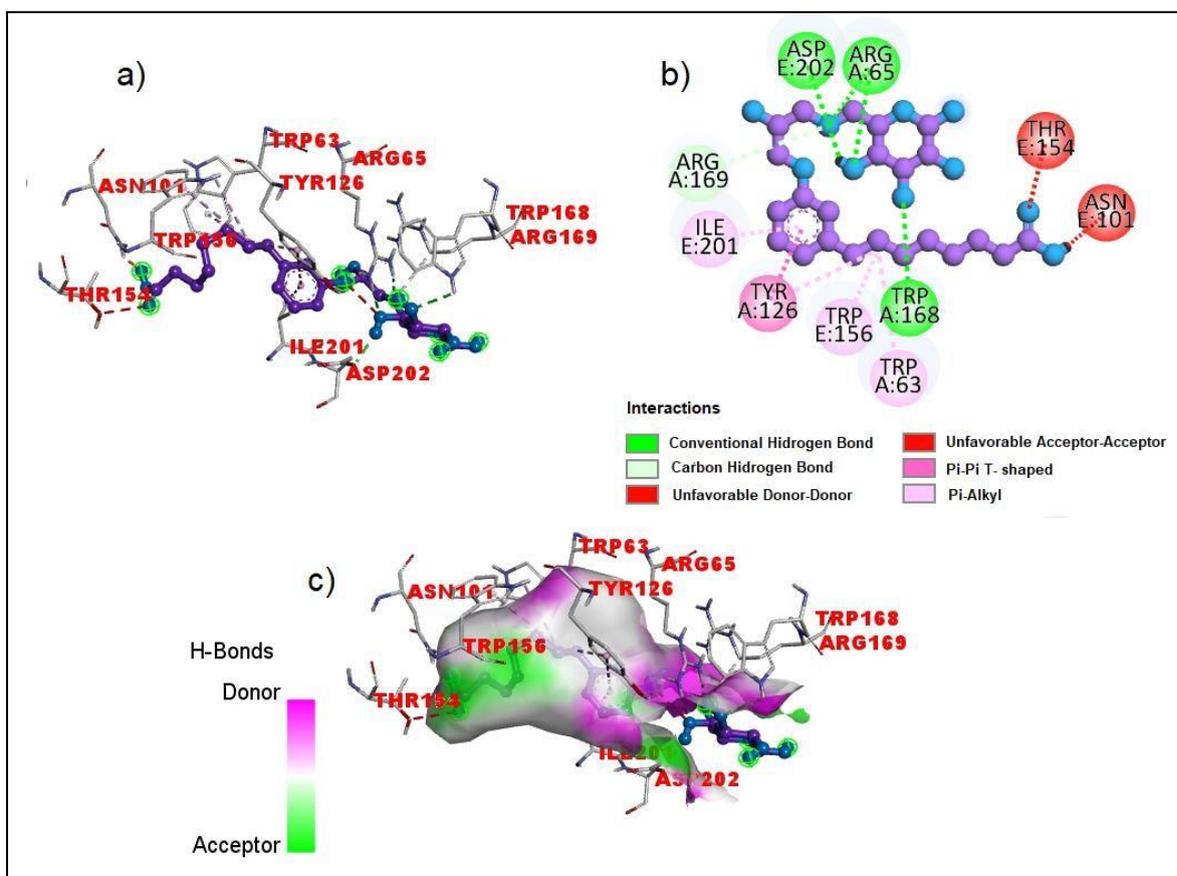


Figura 28. (a) Ancoragem da molécula 4c com a 5-hidroxitriptamina, (b) ancoragem 2D da molécula 4c com a 5-hidroxiipamina, (c) Ancoragem da molécula 4c com a 5-hidroxitriptamina mostrando a ligações de hidrogênio, doador e receptor.

5.2.1.6 Docking com (8-(3-hidroxifenil)octanoil)glicina (1d)

A molécula 1d é pequena, três ligações de hidrogênio são observadas na extremidade da cadeia lateral com a Tyr 207, Tyr 126 e Asn 205 com distâncias de 2,01, 2,47 e 2,22 Å, o que pode ser o motivo da baixa energia de escore (-8,4 kcal/mol) respectivamente, interações hidrofóbicas π -alquil, empilhadas π - π e π - π em forma de T também são observadas, conforme a figura 29.

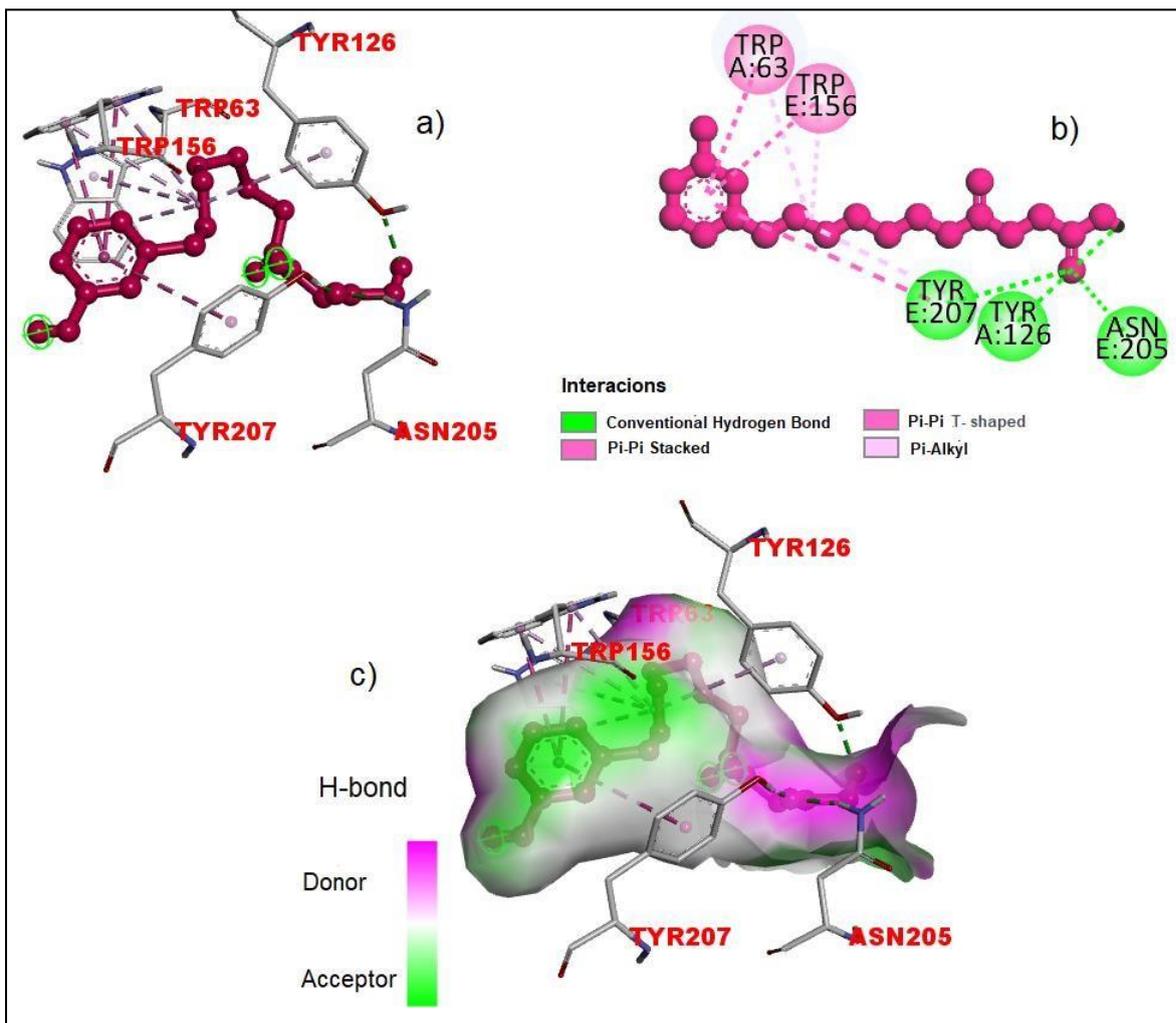


Figura 29. (a) Ancoragem da molécula 1d com a 5-hidroxitriptamina, (b) ancoragem 2D da molécula 1d com a 5-hidroxiipamina, (c) Ancoragem da molécula 1d com a 5-hidroxitriptamina mostrando a ligações de hidrogênio, doador e receptor.

5.2.1.7 Docking com (8-(3-hidroxifenil)octanoil)glutamina (2d)

A molécula 2d tem estrutura maior que a molécula 1d, possui mais interações e se acopla melhor no sítio ativo da enzima, apesar das interações hidrofóbicas em torno do anel e da cadeia longa.

Encontra-se presente uma ligação de hidrogênio com Arg 65 de distância igual a 2,58 Å, interação de doador-doador desfavorável com Arg 169 com o hidrogênio ligado ao nitrogênio com distância de 2,17 Å, interações como alquil, π -alquil, empilhadas π - π , π - π em forma de T conforme a figura 30.

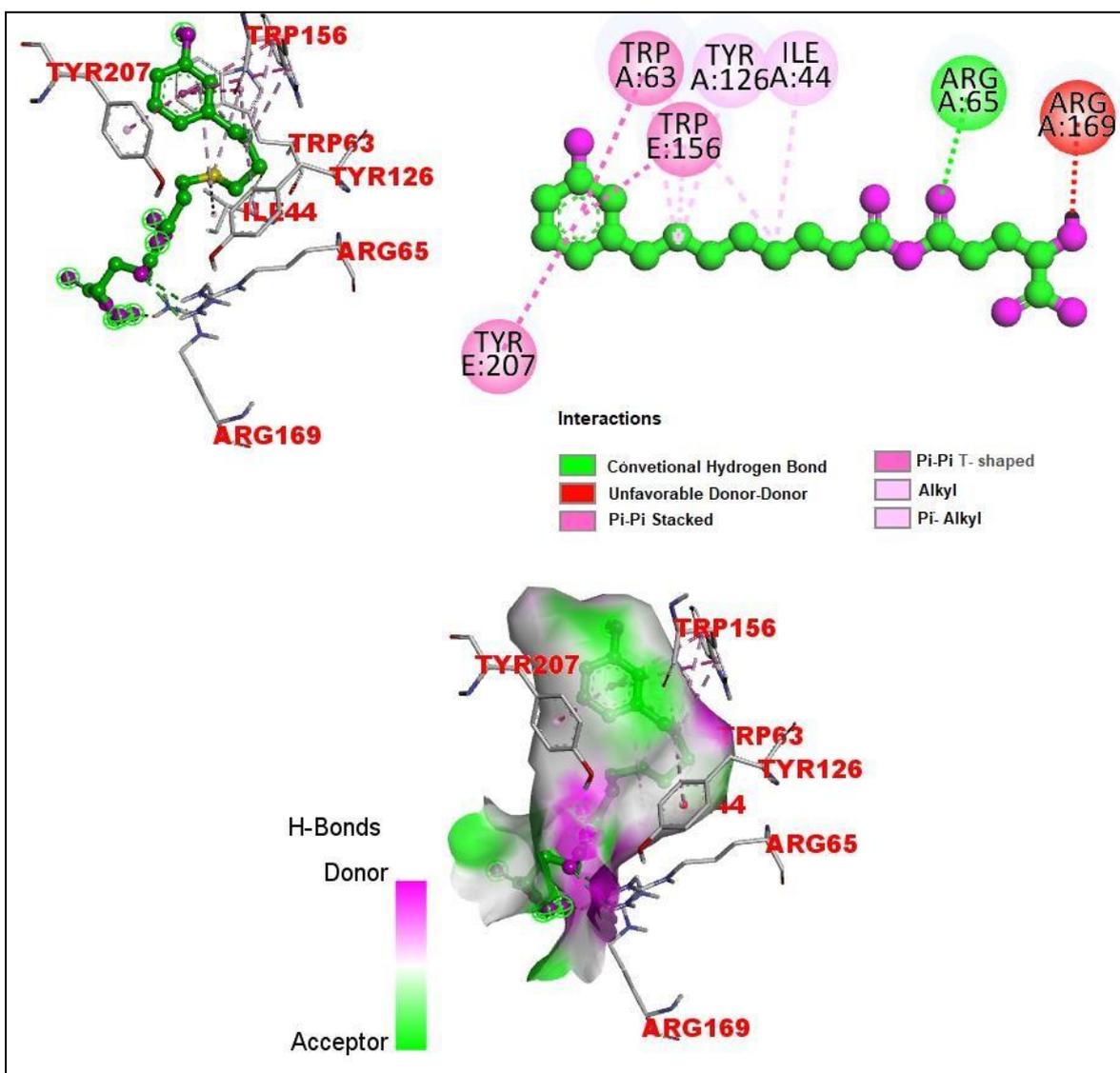


Figura 30. (a) Ancoragem da molécula 2d com a 5-hidroxitriptamina, (b) ancoragem 2D da molécula 2d com a 5-hidroxiipamina, (c) Ancoragem da molécula 2d com a 5-hidroxitriptamina mostrando a ligações de hidrogênio, doador e receptor.

5.2.1.8 Docking com (8-(3-hidroxifenil)octanoil)tirosina (3d)

As interações entre a molécula 3d são ligações de hidrogênio com Asp 177, Arg 169 e Trp 168 com distâncias de 2,26 Å, 2,69 Å e 2,60 Å respectivamente. Uma interação eletrostática π -cátion da Arg 65 com o anel aromático é apresentada com a distância de 4,31 Å. Também são observadas outras interações como alquil, π -alquil, empilhadas π - π e π - π em forma de T, conforme a figuras 31. A molécula 3d também tem energia menor que o cardanol quando ancorada com a 5-hidroxitriptamina devido as interações de hidrogênio presentes nessa molécula que não estão presentes no cardanol somadas com as outras interações o que justifica sua energia de escore ser -8,2 kcal/mol.

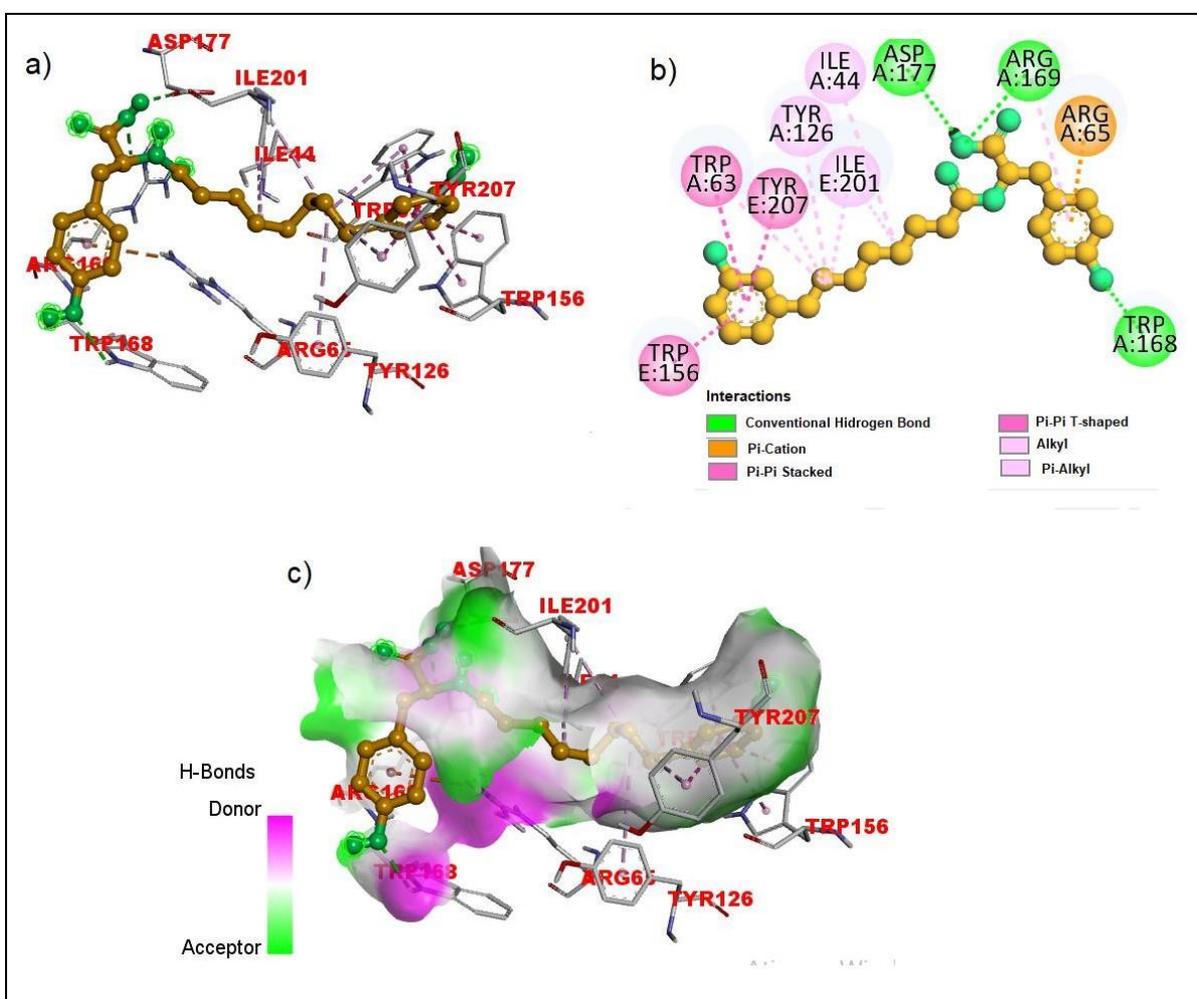


Figura 31. (a) Ancoragem da molécula 3d com a 5-hidroxitriptamina, (b) ancoragem 2D da molécula 3d com a 5-hidroxiipamina, (c) Ancoragem da molécula 3d com a 5-hidroxitriptamina mostrando a ligações de hidrogênio, doador e receptor.

5.2.2. Dockings realizados com a acetilcolinesterase

5.2.2.1 Docking com o cardanol (1a)

As interações observadas no acoplamento do cardanol com a acetilcolinesterase são as interações π - σ com Trp 86 com distância de 3,84 Å e Trp 286 com distância de 3,83 Å e interações π -alquil com His 447, Tyr 337, Phe 338 e Tyr 341, conforme a figura 32. As interações são todas de caráter hidrofóbico com a cadeia lateral da molécula, iso justifica a energia de escore baixa igual a -7,8 kcal/mol, quando comparado com o ligante original.

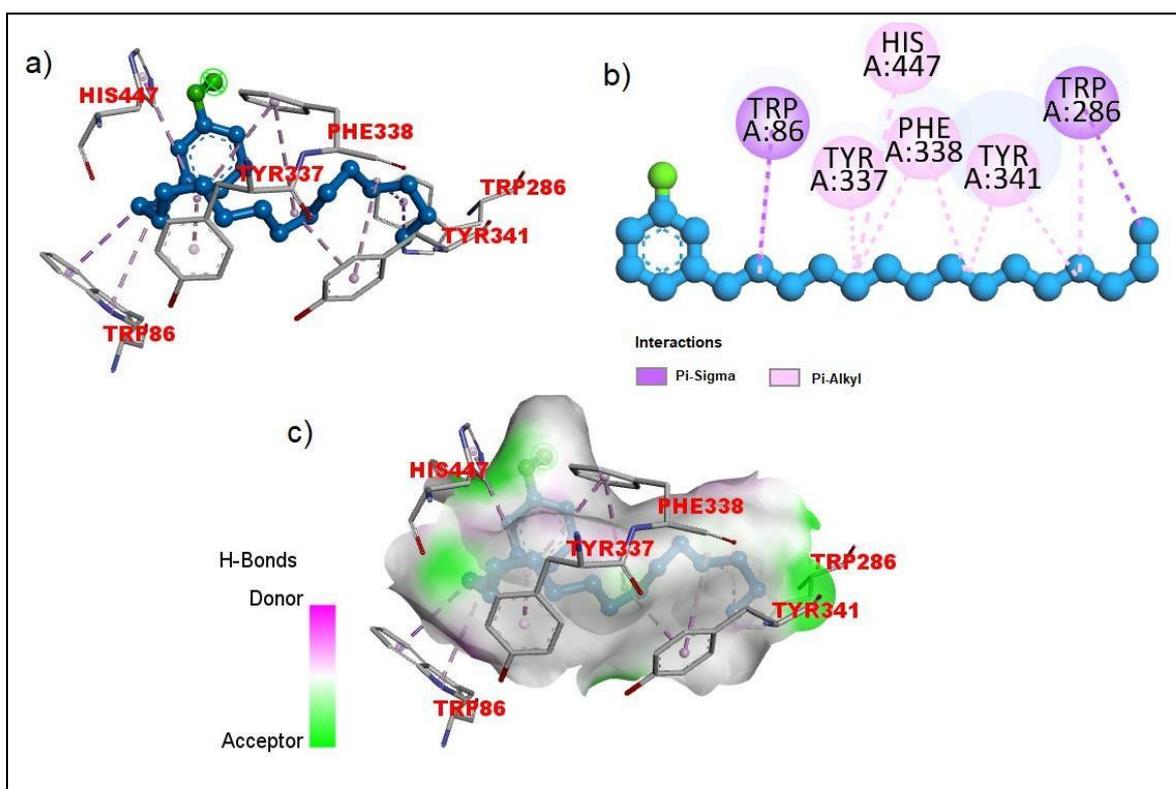


Figura 32. (a) Ancoragem do cardanol com a acetilcolinesterase, (b) ancoragem 2D do cardanol com a acetilcolinesterase, (c) Ancoragem do cardanol com a acetilcolinesterase mostrando a ligações de hidrogênio, doador e receptor

5.2.2.2 Docking com (R)-6(O)-((2hidróxi-3-(3-pentadecilfenóxi)propil-β-D-glicopiranosose (4b)

A molécula 4b possui apenas uma ligação de hidrogênio com a Gln 228 de distância igual a 2,61 Å. Várias interações do tipo ligação carbono-hidrogênio e ligação de hidrogênio doador π são observadas para molécula 4b, a menor delas com a Ser 229, com distância de 3,39 Å. Observa-se interações hidrofóbicas do tipo π-σ, empilhadas π-π e π-alkil, conforme a figura 33. A energia de ligação dessa molécula é de -9,5 kcal/mol, um dos valores de energia mais baixo entre os outros tesados. Apesar de apenas uma ligação de hidrogênio, a molécula 4b possui muitas ligações carbono-hidrogênio que somadas com as outras interações apresentadas levam a um resultado promissor em questão de energia.

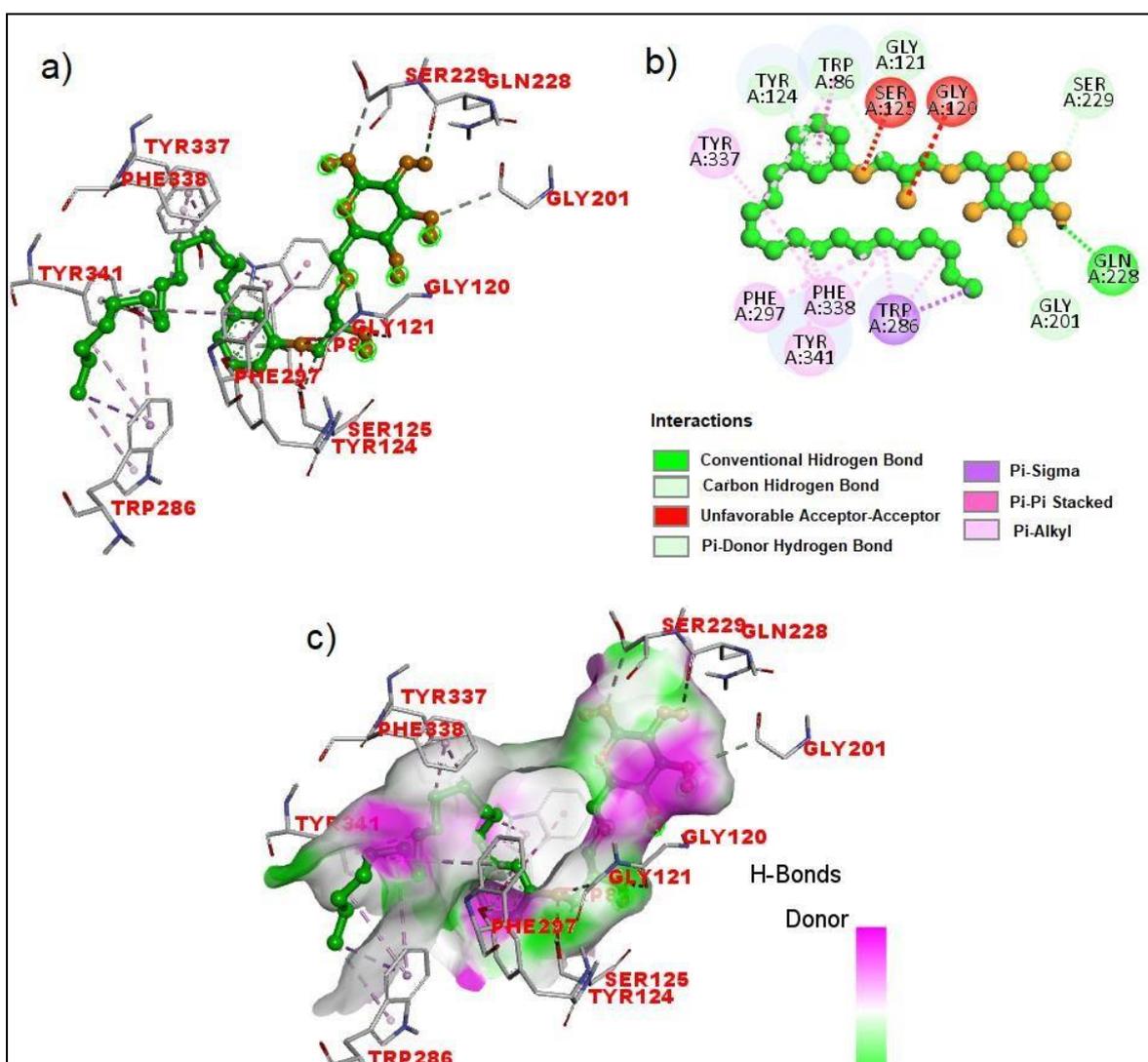


Figura 33. (a) Ancoragem da molécula 4b com a acetilcolinesterase, (b) ancoragem 2D da molécula 4b com a acetilcolinesterase, (c) Ancoragem da moécua 4b com a acetilcolinesterase mostrando a ligações de hidrogênio, doador e receptor.

5.2.2.3 Docking com (S)-Ácido8-(3-(2-hidróxi-3-O-(β-D-glicopirano-6-il)propóxi)fenil)octanóico (2c)

A molécula 2c em energia de escore igual a -9,4 kcal/mol, apresenta três ligações de hidrogênio com a Tyr 133, Gly 122 e Tyr 124 com distâncias de 2,92 Å, 2,42 Å e 3,01 Å respectivamente. Várias interações carbono-hidrogênio são notadas, a menor delas com a distância de 3,42 Å. Uma interação aceitador-aceitador desfavorável com a Tyr 72 aparece, com a distância de 2,99 Å. Interações π-π empilhadas e π-alquil podem ser observadas na figura 34, o que diminui a energia dessa molécula, visto o número de interações do tipo ligações de hidrogênio e carbono-hidrogênio somadas com as outras interações hidrofóbicas.

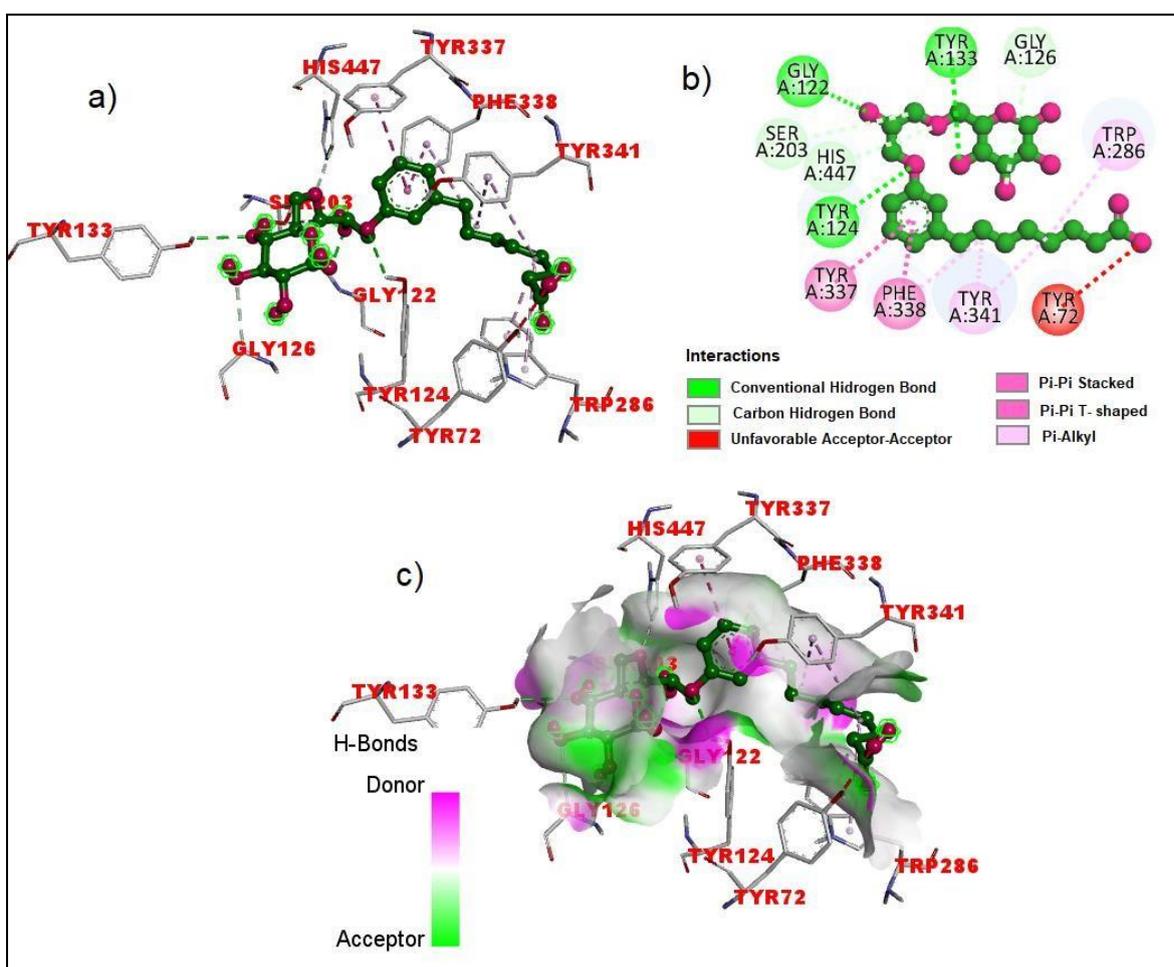


Figura 34. (a) Ancoragem da molécula 2c com a acetilcolinesterase, (b) ancoragem 2D da molécula 2c com a acetilcolinesterase, (c) Ancoragem da moécua 2c com a acetilcolinesterase mostrando a ligações de hidrogênio, doador e receptor.

5.2.2.4 Docking com (R)-Ácido8-(3-(2-hidróxi-3-O-(β-D-glicopirano-6-il)propóxi)fenil)octanoico (4c)

A molécula 4c apresenta duas ligações de hidrogênio da Tyr 337 com o oxigênio de uma hidroxila do anel com distância de 2,71 Å e Asp 74 com um hidrogênio da hidroxila do anel com distância de 2,92 Å. Observa-se uma ligação carbono-hidrogênio com a Ser 203 de distância igual a 3,4 Å, interação doador-doador desfavorável com Gly 121, Gly 122 com pequenas distâncias de 1,32 Å e 1,95 Å respectivamente. Interações empilhadas π-π, π-π em forma de T, alquil e π-alquil também são observadas na figura 35. A conformação da molécula mostra uma ancoragem mais efetiva, o que justificaria a diminuição da energia de escore.

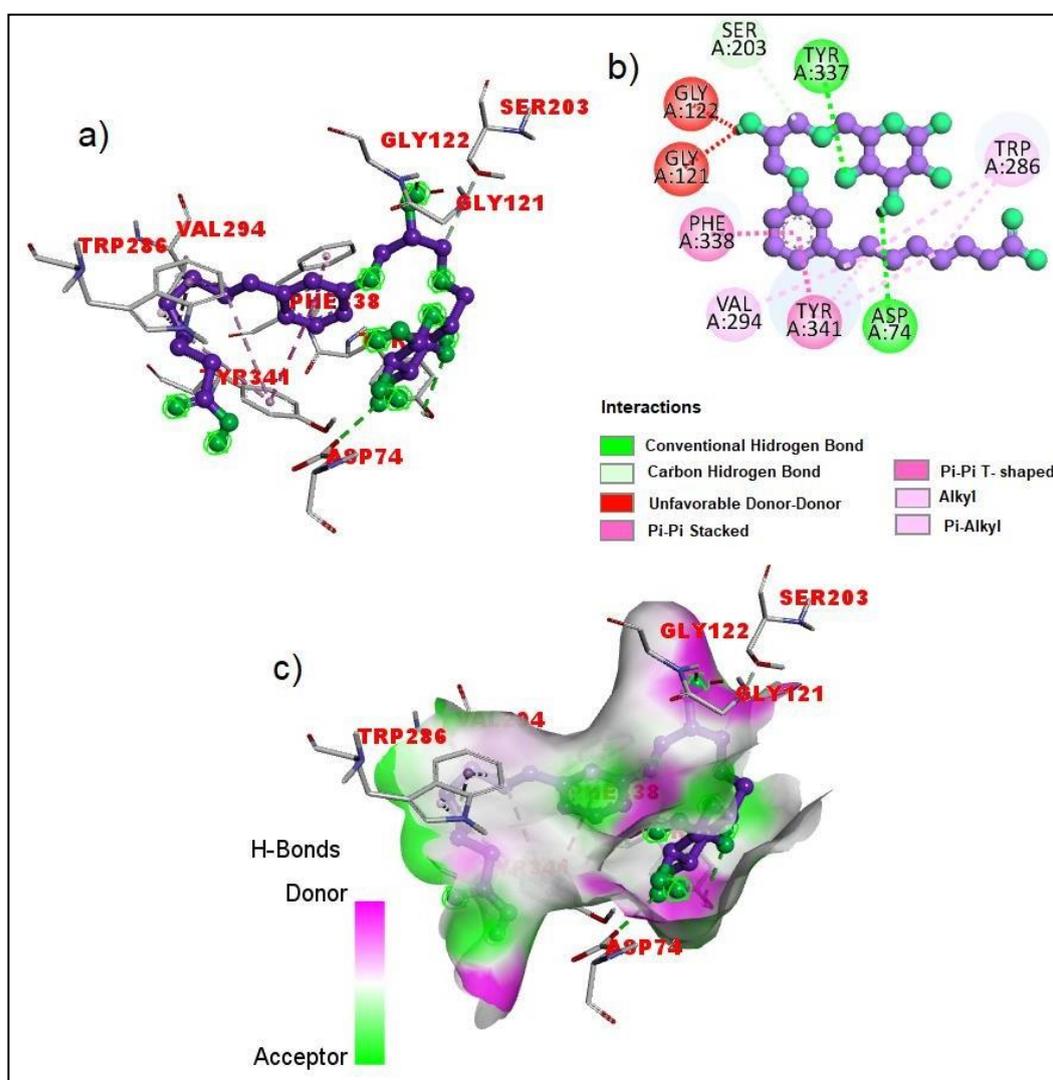


Figura 35. (a) Ancoragem da molécula 4c com a acetilcolinesterase, (b) ancoragem 2D da molécula 4c com a acetilcolinesterase, (c) Ancoragem da moécua 4c com a acetilcolinesterase mostrando a ligações de hidrogênio, doador e receptor.

5.2.2.5 Docking com da (8-(3-hidroxifenil)octanoil)tirosina (3d)

A molécula 3d é aquela que apresenta o melhor resultado a nível de energia com a acetilcolinesterase (-10,3 kcal/mol) o que faz dela uma forte candidata a inibidora da acetilcolinesterase. Ela dispõe de quatro ligações de hidrogênio, sendo três delas muito próximas entre si e a menor delas de 2,02 Å de distância com o hidrogênio da hidroxila do anel aromático e a Asp 74. Uma interação aceitador-aceitador desfavorável ocorre entre a Arg 296 e o oxigênio da hidroxila de um dos anéis e outras interações hidrofóbicas são apresentadas na figura 36. Observe que para essa molécula houve um maior número de interações, o que indica que ela ancorou de forma efetiva no sítio ativo, além das ligações de hidrogênio, o que justifica a menor energia de escore com a acetilcolinesterase.

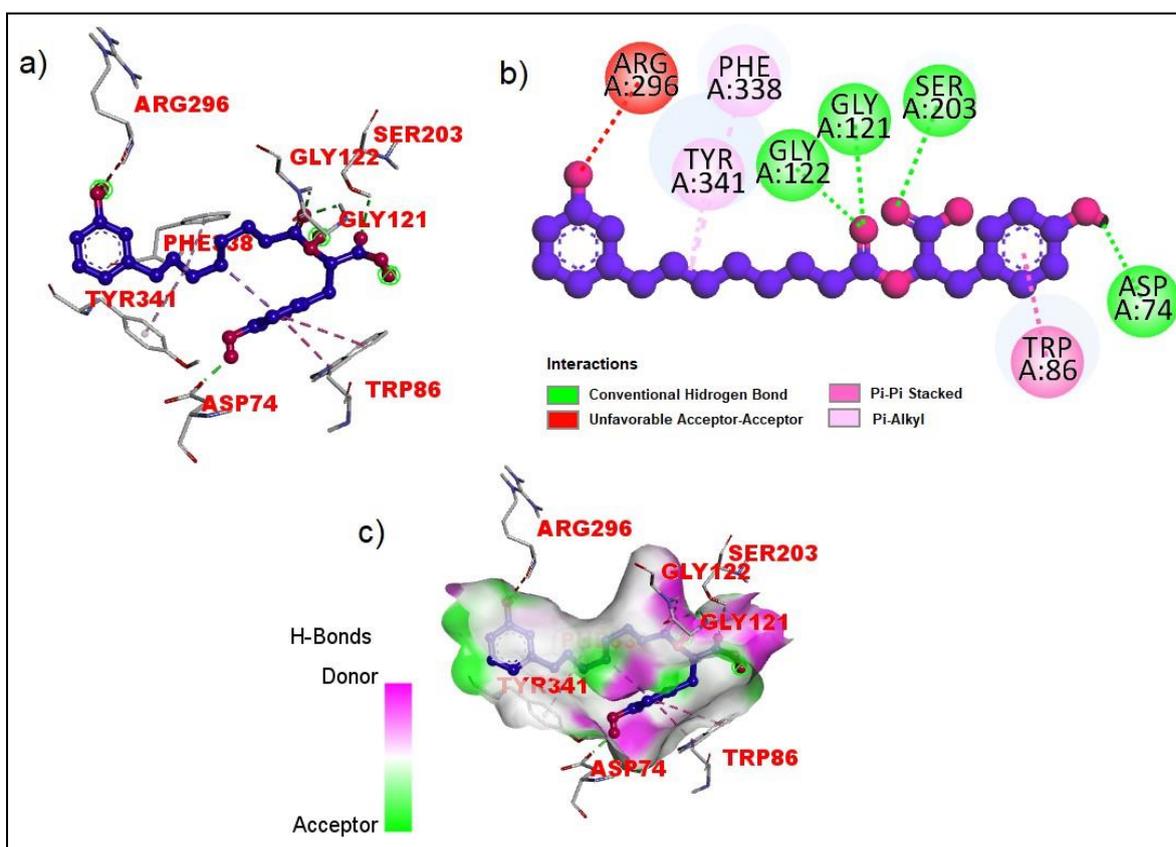


Figura 36. (a) Ancoragem da molécula 3d com a acetilcolinesterase, (b) ancoragem 2D da molécula 3d com a acetilcolinesterase, (c) Ancoragem da molécula 3d com a acetilcolinesterase mostrando as ligações de hidrogênio, doador e receptor.

5.2.3 Dockings com o Gliceraldeído-3-fosfato dehidrogenase

5.2.3.1 Docking com o cardanol (1a)

O cardanol apresenta duas ligações de hidrogênio da Glu 79 com o hidrogênio da hidroxila do anel aromático (fato que não aconteceu com nenhuma as outras macromoléculas) com distância de 2,12 Å e Asn 9 com o oxigênio da hidroxila do anel aromático com distância de 2,52 Å, outras interações hidrofóbicas π - σ com a Thr 99 e alquil e π -alquil podem ser observadas na figura 37. Apesar das duas ligações de hidrogênio, olhando para conformação, nota-se que ela não ancora de forma tão efetiva na enzima, o que justifica a energia de escore ser menor que a do ligante original (tabela 2).

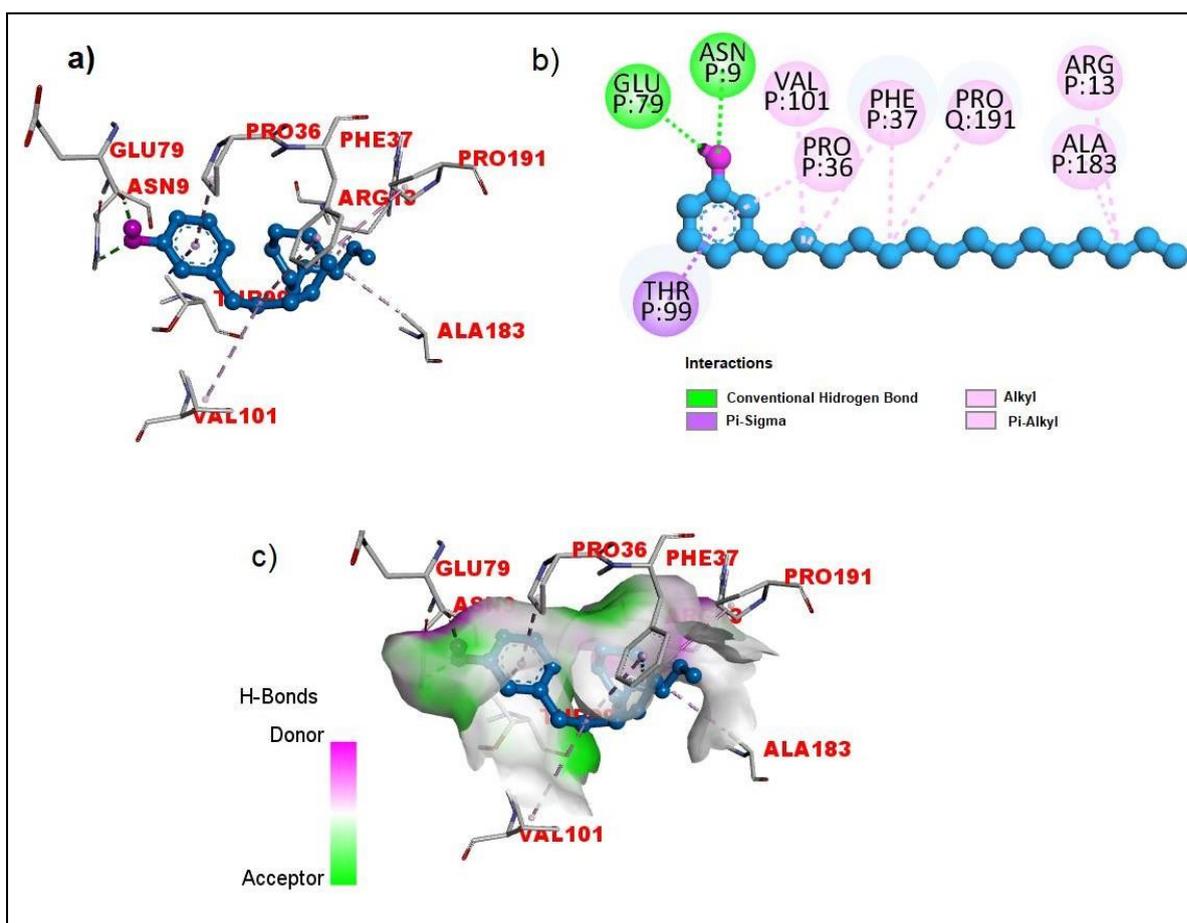


Figura 37. (a) Ancoragem do cardanol com o gliceraldeído-3-fosfato, (b) ancoragem 2D do cardanol com o o gliceraldeído-3-fosfato, (c) Ancoragem com o o gliceraldeído-3-fosfato mostrando a ligações de hidrogênio, doador e receptor.

5.2.3.2 Docking com (R)-Ácido8-(3-(2-hidróxi-3-O-(β-D-glicopirano-6-il)propóxi)fenil)octanóico (4c)

A molécula 4c apresenta uma energia de escore igual a -7,6 kcal/mol. Dispõe de apenas duas ligações de hidrogênio com a Asn 34 e a Cys 152 sendo a menor delas a com Asn 34 à distância 2,21 Å.

As interações com os aminoácidos observadas são duas ligações de hidrogênio, três ligações carbono-hidrogênio que aparecem com a Asn 35 e Gly 10, uma interação do tipo doador-doador desfavorável com a Asn 9. Outras do tipo alquil e π-alquil podem ser visualizadas na figura 38. Essas interações, incluindo as ligações de hidrogênio somadas às outras permitem que a molécula 4c tenha uma energia menor que do cardanol.

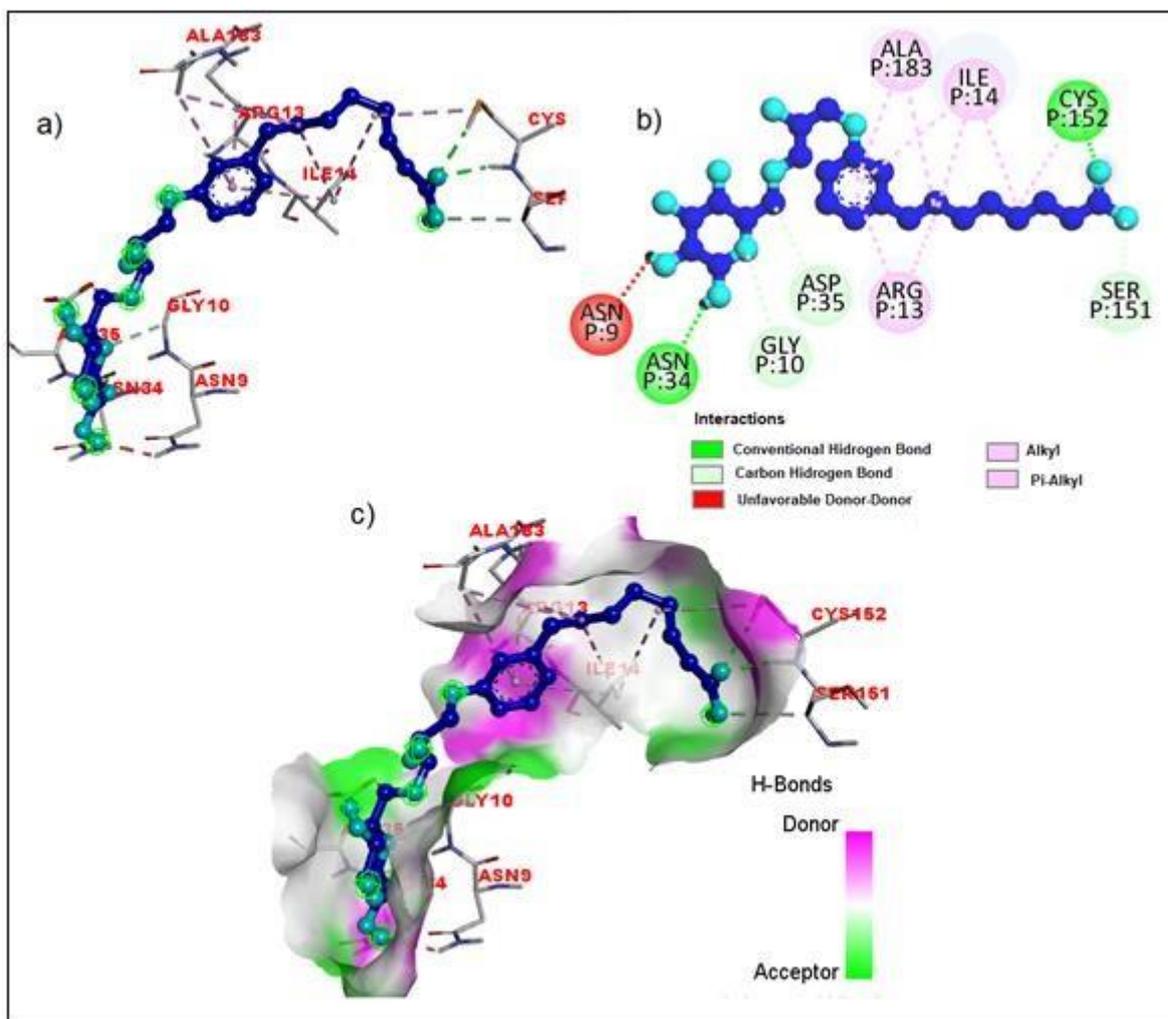


Figura 38. (a) Ancoragem da molécula 4c com o gliceraldeído-3-fosfato, (b) ancoragem 2D da molécula 4c com o gliceraldeído-3-fosfato, (c) Ancoragem da molécula 4c com o gliceraldeído-3-fosfato mostrando as ligações de hidrogênio, doador e receptor.

5.2.3.3 Docking com a (8-(3-hidroxifenil)octanoil)tirosina (3d)

A da molécula 3d tem a menor das energias de escore para essa enzima (-8,3 kcal/mol), dentre as moléculas testadas com o gliceraldeído é aquela que apresenta o maior número de ligações de hidrogênio. Essas ligações acontecem com a Asn 9, Gly 10, Ser 98, Gly 15, Ile 14, Ser 122, Arg 13 e Glu 317. As mais curtas acontecem com a Asn 9 e o hidrogênio da hidroxila do anel aromático com distância de 1,96 Å e a Ile 14 com o oxigênio de uma carbonila na cadeia com distância de 1,98 Å, que são interações muito fortes. Observa-se na figura 39 que o maior número de interações são hidrofílicas e que restam apenas algumas interações hidrofóbicas, o que justifica o melhor ancoramento da molécula com a enzima com a diminuição da energia de escore.

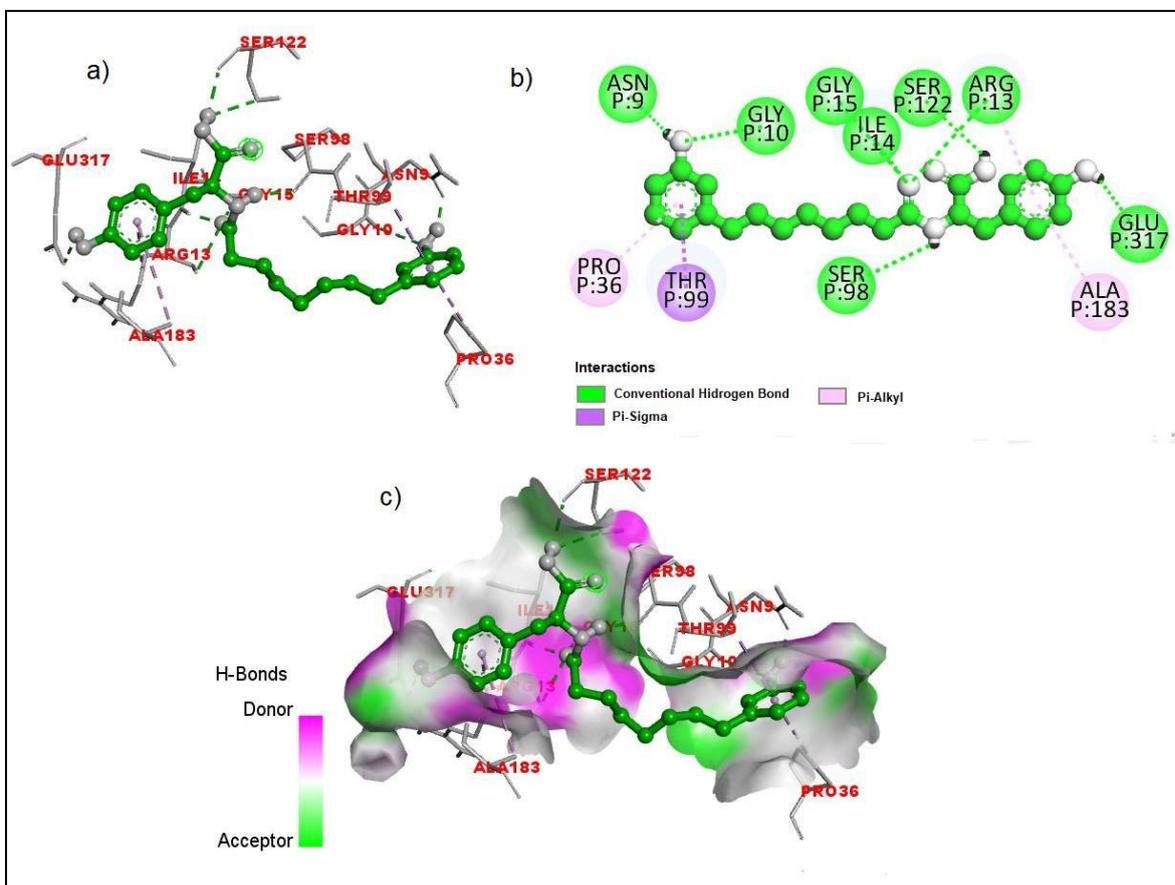


Figura 39. (a) Ancoragem da molécula 3d com o gliceraldeído-3-fosfato, (b) ancoragem 2D da molécula 3d com o o gliceraldeído-3-fosfato, (c) Ancoragem da mlécula 3d com o o gliceraldeído-3-fosfato mostrando a ligações de hidrogênio, doador e receptor.

5.3 RESULTADOS DA DINÂMICA MOLECULAR

Com base nos resultados do docking, selecionamos as proteínas acetilcolinesterase (AcHe) e gliceraldeído-3-fosfato dehidrogenase (GAPDH) para realizar o estudo de simulação de dinâmica molecular, além disso foi escolhido o ligante de menor energia ((8-(3-hidroxifenil)octanoil)tirosina) tendo em vista as três macromoléculas, o ligante de melhor resultado para as três macromoléculas.. No entanto, por a 5-hidroxitriptamina ser um receptor muito grande, não foi possível realizar a simulação em tempo hábil. A simulação avaliou a interação da proteína- ligante com as duas enzimas ao longo de um determinado tempo em um ambiente solvatado.

Os RMSDs médios de 0 a 100 ns para AcHe e GAPDH, são proteínas complexas de 0,17 +/- 0,03 nm, 0,18 +/- 0,03 nm, respectivamente. O desvio quadrático médio (RMSD) dos complexos AcHe e GAPDH não apresentou desvio significativo (Figuras 40 e 41). Esses resultados de RMSD representam a estabilidade relativa do complexo de compostos ao longo da simulação. No geral, os resultados do RMSD indicam que os complexos proteicos AcHe e GAPDH em interação com a (8-(3-hidroxifenil)octanoil)tirosina foram considerados relativamente estáveis ao longo da simulação. As diferenças entre os complexos foram pequenas, sugerindo que são muito semelhantes em termos de estabilidade. Isso provavelmente se deve ao fato de que todos eles contêm componentes semelhantes em suas estruturas.

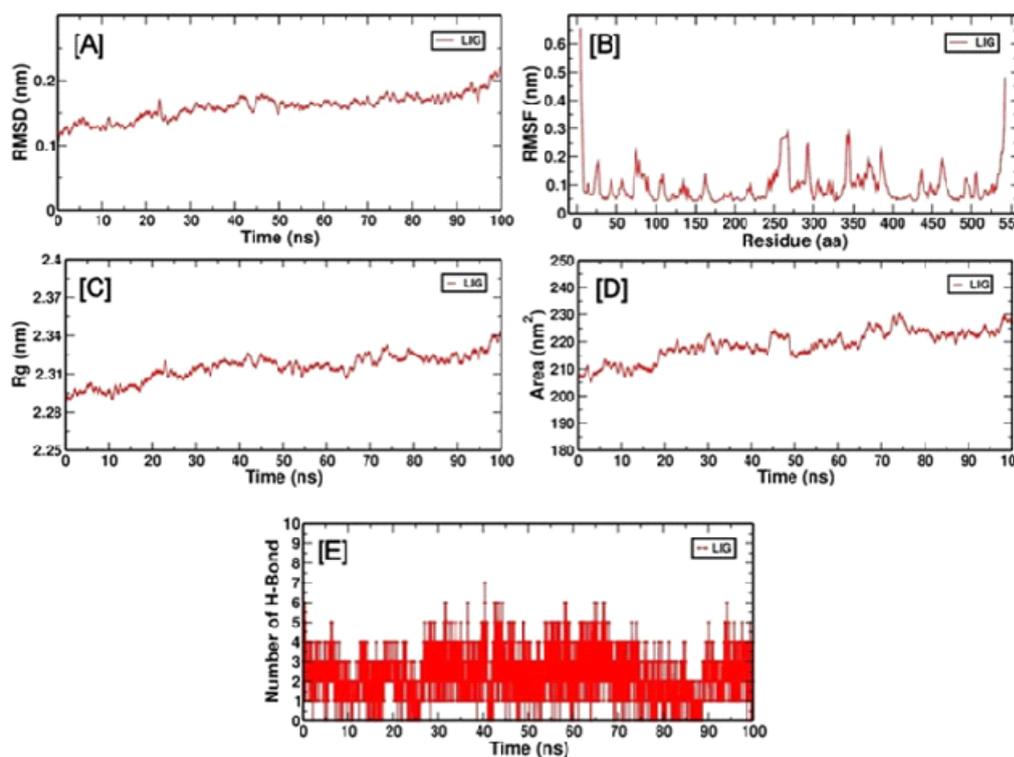


Figura 40. Análise (AcHe MD: A RMSD, B RMSF, C Rg , D SASA, E Hbond)

A análise RMSF determina quais aminoácidos da proteína fazem mais vibrações, resultando na desestabilização da proteína na presença e ausência dos ligantes. Os valores de RMSF foram calculados em relação à escala de tempo de simulação de 0 a 100 ns. Os RMSFs médios de 0 a 100 ns para proteínas do complexo proteico tirosina-AcHe e tirosina-GAPDH foram $0,10 \pm 0,06$ nm, $0,09 \pm 0,07$ nm, respectivamente. Os resultados de RMSF para complexos tirosina-AcHe e tirosina- GAPDH são representados na figura 40 e 41 B . O resultado sugere que não há mudanças estruturais significativas durante a simulação de 100 ns.

De acordo com a figura 40 E o número de ligações de hidrogênio varia de 0 a 7 e a estabilidade das ligações variam de 3 a 4 de 0 a 100 ns.

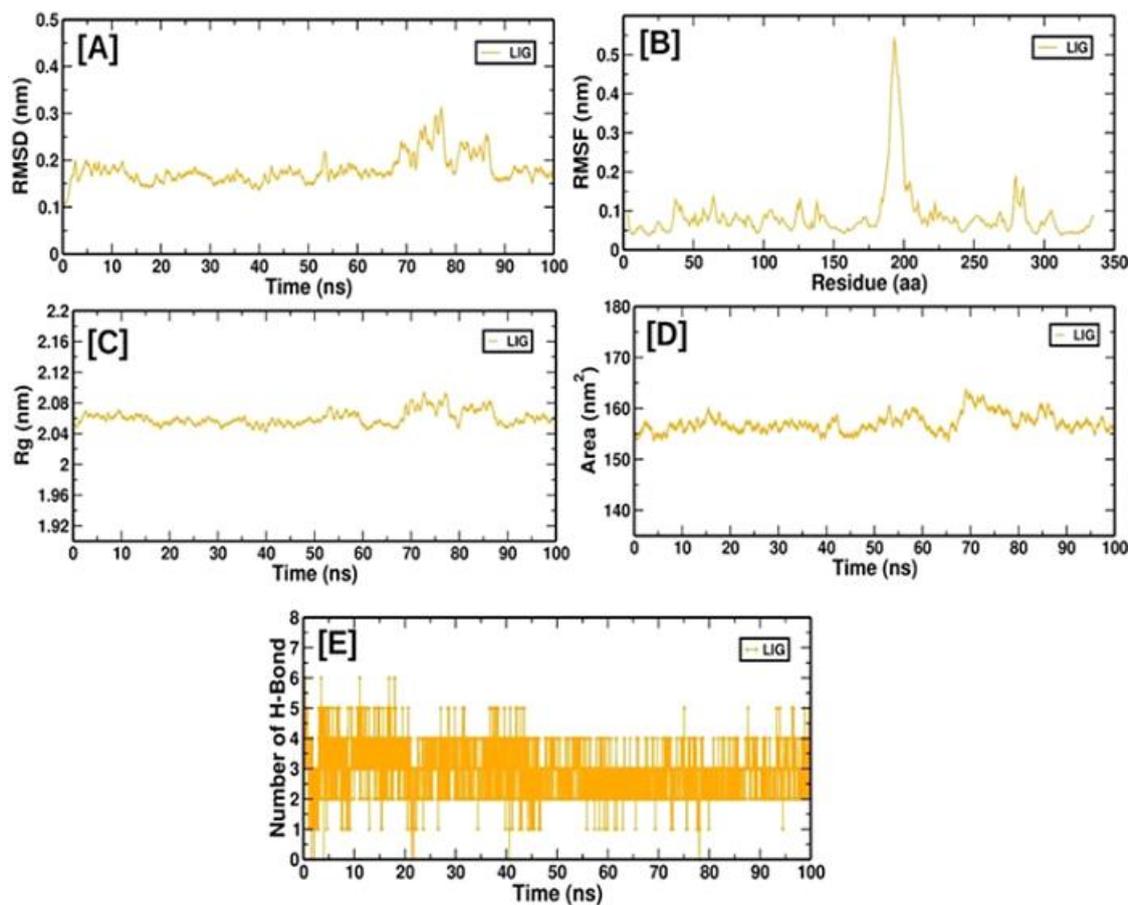


Figura 41. Análise (GLICE2 MD: A RMSD, B RMSF, C Rg , D SASA, E Hbond)

O raio de giração indica a compactação do complexo ligante-proteína. O dobramento da estrutura geral em diferentes intervalos de tempo durante a trajetória pode ser observada no gráfico Rg ilustrado na Figura 40 e 41 C. Ao longo da simulação, os complexos ligante-proteína tirosina-AcHe e tirosina- GAPDH exibiram um padrão semelhante de valor Rg . O valor médio de RG de 0 a 100 ns para proteínas do complexo proteína-ligante tirosina-AcHe e tirosina- GAPDH foi de $2,32 \pm 0,01$ nm, $2,07 \pm 0,01$ nm, respectivamente. Os valores de Rg do complexo proteína-ligante indicam que não há diferença significativa entre o dobramento da forma do complexo em diferentes intervalos de tempo durante a trajetória, ou seja, ligante não causou mudanças grandes da compactação da proteína, indicando que ele está acomodado no sítio ativo da enzima, o que sugere que o complexo proteico é estruturalmente estável durante toda a simulação.

A SASA (solvent-accessible surface área) em português, área de superfície acessível ao solvente é responsável por informar se a introdução do ligante dentro na enzima alterou sua estrutura ou afetou regiões acessíveis à moléculas de solvente da enzima, A mudança de SASA da tirosina-AcHe e tirosina- GAPDH com o tempo é mostrada na Figura 40 e 41 D

O valor médio de RG de 0 a 100 ns para proteínas-ligantes de tirosina-AcHe e tirosina- GAPDH foram 220,07 +/- 4,30 nm, 157,67 +/- 3,41 nm, respectivamente . Isso indica que não há mudança na proteína de nível estrutural ao longo da simulação.

Para o complexo tirosina- GAPDH são formadas de 0 a 6 ligações de hidrogênio em 100 ns, no entanto permanecem estáveis de 3 a 4. Comparando com a tirosina-AcHe, o o complexo tirosina- GAPDH forma uma ligação de hidrogênio a menos porém o número de ligações estáveis é o mesmo. Observe os resultados organizados no quadro 1 abaixo.

Quadro 2: Dados com os resultados de RMSD, RMSF, RG, SASA e Ligações de hidrogênio para os complexos tirosina-AcHe e tirosina-GAPDH

Tempo 0 a 100 ns	TIROSINA-ACHE	TIROSINA- GAPDH
RMSD (Desvio quadrático da raiz da proteína)	0,17 +/- 0,03 nm	0,18 +/- 0,03 nm
RMSF (Flutuação quadrática média da raiz)	0,10 +/- 0,06 nm	0,09 +/- 0,07 nm
RG (Raio de giração)	2,32 +/- 0,01 nm	2,07 +/- 0,01 nm
SASA (Área de superfície acessível ao solvente)	220,07 +/- 4,30 nm	157,67 +/- 3,41 nm
LIGAÇÃO DE HIDROGÊNIO	0 a 7 ligações de hidrogênio: estáveis de 3 a 4	0 a 6 ligações de hidrogênio : estáveis de 3 a 4

5.4 DETERMINAÇÃO DA AFINIDADE DE LIGAÇÃO - MM – PBSA

Para determinar a afinidade de ligação do ligante -(3-hidroxifenil)octanoil)tirosina) com as enzimas AcHe e GAPDH, examinamos a força de ligação relativa dentro da proteína O quadro 1 compara a força de ligação de AcHe e GAPDH em relação à (3-hidroxifenil)octanoil)tirosina), calculados pelo método MM-PBSA. Ao longo de uma trajetória de simulação estável, calculamos as contribuições do nível de resíduo para a energia de interação, conforme o quadro 1 e observamos que a energia total de ligação muito negativa para ambos os complexos proteína-ligante em ambas as enzimas, o que é muito promissor, indicando que a molécula energia ((8-(3-hidroxifenil)octanoil)tirosina) é um forte candidato a inibidor. A energia total para tirosina-AcHe 1 foi igual a -109,360 +/- 20,367 kJ/mol (-26,138 +/- 4,868 kcal/mol) e para tirosina- GAPDH foi igual a -57,549 kJ/mol +/- 15,277 kJ/mol (-13,755 +/- 3,651 kcal/mol). tirosina-AcHe e tirosina- GAPDH

Quadro 2: Comparação da força de ligação de AcHe e GAPDH com (3-hidroxifenil)octanoil)tirosina)

Sistema	Energia van der Waal	Energia eletrostática	Energia de solvatação polar	Energia de ligação
AcHe	-172,551 +/- 14,665 kJ/mol	-36,794 +/- 10,100 kJ/mol	120,840 +/- 21,310 kJ/mol	-109,360 +/- 20,367 kJ/mol
GAPDH	-150,900 +/- 9,407 kJ/mol	-82,214 +/- 4,692 kJ/mol	196,513 +/- 13,659 kJ/mol	-57,549 +/- 15,277 kJ/mol

5.5 PROPOSTA DE ROTA SINTÉTICA PARA A MOLÉCULA (8(3HIDROXIFENIL)OCTANOIL)TIROSINA (3d)

Com o objetivo de se obter o produto-alvo mais promissor deste trabalho, o (8(3-hidroxifenil)octanoil)tirosina, planejou-se a rota sintética apresentada na figura 72.

A mistura de cardanóis extraída diretamente do líquido da casca da castanha do caju técnico (LCC), obtida e purificada por cromatografia líquida em coluna, pode ser oxidada via clivagem oxidativa das ligações duplas C=C com tetróxido de ósmio. É importante ressaltar que os análogos monoeno, dieno e trieno do cardanol apresentam a primeira insaturação sempre em C8, o que significa que a quebra oxidativa gerará, invariavelmente, o produto ácido 8-(3-hidroxifenil)octanoico, além de outros fragmentos menores e do próprio cardanol saturado, os quais deverão ser removidos durante processo de purificação.

A combinação do L-tirosinato de metila (por sua vez, sintetizado via esterificação da L-tirosina comercial com metanol) com o ácido produzido anteriormente via ligação peptídica, processada por meio dos reagentes dicicloexilcarbodiimida (DCC) e 1-hidroxibenzotriazol (HOBt) em diclorometano, poderá gerar, portanto, o produto final estudado neste trabalho. Essa síntese foi realizada em laboratório em parceria por um aluno de PIBIC, que testou inúmeros processos cromatográficos e está em processo de purificação não isolando o produto até o devido momento, dando a oportunidade para estudos posteriores a esse, visto que essa molécula mostrou boa atividade com as três macromoléculas que foram objetos de estudo desse trabalho.

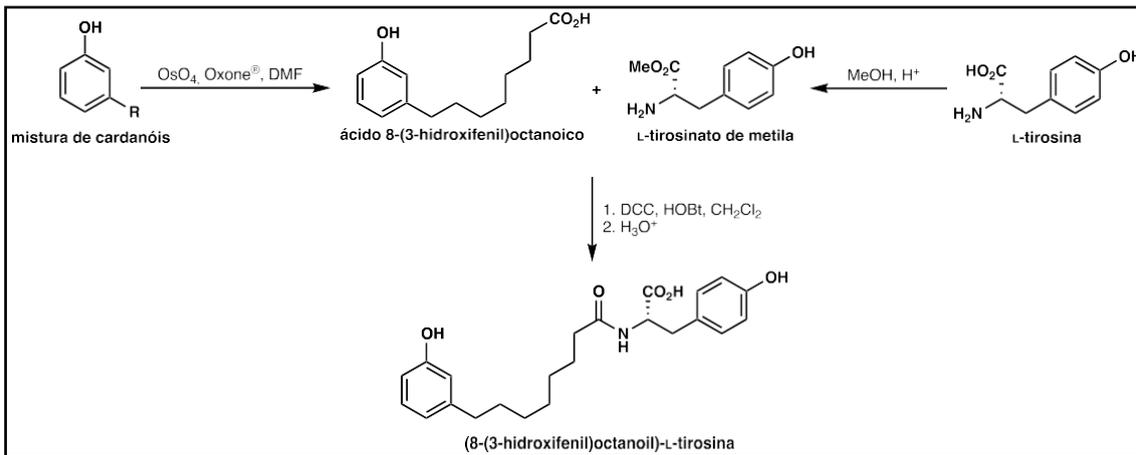


Figura 42. Rota de síntese proposta para a (8(3-hidroxifenil)octanoil)tirosina

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O óleo da casca da castanha de caju, fonte renovável e rica em substâncias promissoras para o estudo de Química Medicinal, como o cardanol, também pode ser aproveitado para a obtenção de derivados deste abundante componente. Os estudos do docking do cardanol e derivados no presente trabalho levaram a resultados significativos quando testados com macromoléculas que se relacionam com várias doenças, como depressão e ansiedade, no caso da 5-hidroxitriptamina. Levando em consideração que os cálculos de docking simplificam o processo quando se trata do estudo de um possível fármaco, o cardanol e seus derivados mostraram excelentes resultados, quando avaliadas as energias de escore para a 5-hidroxitriptamina e acetilcolinesterase por exemplo, os valores das energias de escore principalmente para 5-hidroxitriptamina comparado com o valor de score do ligante original são próximos e é possível avaliar quais as moléculas promissoras, visto que o valor da energia de escore deve ser igual ou menor que a energia de escore do ligante original. Um exemplo é o (S)-Ácido 8-(3-(2-hidróxi-3-O-(α -D-glicopirano-6-il)propóxi)fenil)octanoico, que docado com a 5-hidroxitriptamina tem uma energia de score igual a -8,6 kcal/mol, que é um valor menor que a energia de score do ligante original, o que pode nos levar a um possível inibidor do receptor 5-hidroxitriptamina e a um possível fármaco.

A (8(3-hidroxifenil)octanoil)tirosina, derivada do cardanol, apresenta bons resultados para as três macromoléculas, o que levou aos estudos através da dinâmica molecular, que confirmou a atividade dessa molécula com as macromoléculas acetilcolinesterase e gliceraldeído-3-fosfato dehidrogenase, visto que a energia total de ligação foi muito negativa para ambos os complexos proteína-ligante em ambas as enzimas, o que é muito promisso. A importância dos resultados desse trabalho possibilitam estudos posteriores de derivados do cardanol que mostraram resultados significativos no docking molecular, como a síntese e avaliação de atividades biológicas que confirmarão o potencial farmacológico de moléculas derivadas de uma substância presente na casca de um fruto abundante no Brasil, a castanha de caju.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AL-OTAIBI, J.S.; COSTA, R.A.; COSTA, E.V.; TANANTA, V.L.; Y.SHEENA, M.; Y.SHYMA, M. Insights into solvation, chemical reactivity, propriedades vibracionais e anti-hipertensivas de um derivado de tiazolopirimidina por simulações DFT e MD, **Structural Chemistry**, n. 33, 2022, p.1271-1283. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11224022-01931-1>

AL-OTAIBI, J.S.; Y.SHEENA, M.; Y.SHYMA, M.; ACHARJEE, N.; Soman, S. Espectroscópico, análise de reatividade e estudos de ancoragem de 3-(adamantan-1-il)-4-(4-fluorofenil)-1-[(4-fenilpiperazin-1-il)metil]-4,5-di-hidro-1H-1,2,4-triazol-5-ona: simulações DFT e MD, **J. Mol. Struct.** n. 1274, 2023, p. 134418, Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2022.134418>

AL-OTAIBI, J.S.; Y.SHEENA, M.; Y.SHYMA, M.; ACHARJEE, N.; BALACHANDAR, S.; YATHIRAJAN, H.S; Insights into solvation effects, espectroscópico, Análise de superfície de Hirshfeld, análise de reatividade e capacidade anti-covid-19 da doxilamina succinate: Experimental, DFT, MD e simulações de acoplamento, **Journal of Molecular Liquids**, n.361, p.119609, 2022.

AMORATI, R. et al. Antioxidant activity of essential oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.61, n.46, p.10835-10847, 2013.

ARAÚJO, C.R.M.; SANTOS, et al. Acetilcolinesterase – AchE: uma enzima de interesse farmacológico. **Revista Virtual de Química**, v. 8, n.6, p. 1818 - 1834, 2016.

ATTANASI, O. A. et al. Synthesis and reactions of nitro derivatives of hydrogenated cardanol. **Tetrahedron**, v. 62, n. 25, p. 6113- 6120, 19, 2006.

BALACHANDRAN, V. S.; JADHAV, S. R.; VEMULA, P. K.; JOHN, G. Recent advances in cardamom chemistry in a nutshell: from a nut to nanomaterials. **The Royal Society of Chemistry**, v. 42, p. 427- 438, 2013.

BARREIRO, E.J; FRAGA, C.A.M. **Química Medicinal: As Bases Moleculares da Ação dos Fármacos**. 3. ed. Porto Alegre. ArtMed:2015. 536p.

BARROS, M.E.S.B. **Estudos de docking molecular, síntese e atividade biológica de análogos da (-)- Massoialactona e da Combrestastatina A-4**. 2015. Tese de doutorado -Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal de Pernambuco (UFP), Pernambuco, 2015.

BERENDSEN, H.J.C. et al. **Físico Química**. v.81, 3684 p, 1984.

BROOKS III, C.L, KARPLUS, M. PETTITT, M.B, Proteins: A theoretical perspective of dynamics structure and Thermodynamics. **Advances in chemical physics**, John Wiley & Sons, New York, 1988.

BRUNTON, L. e al. **Goodman & Gilman Manual de Farmacologia e Terapêutica**. 1.ed. São Paulo: Mc-Graw – Hill. 2010. 1220, 2010p.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods - a review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 94, p.223-253, 2004.

CAMPANER, P. et al. CardanolBased Novolac Resins as Curing Agents of Epoxy Resins. **Journal of Applied Polymer Science**. Itália, v.114, p. 3585-3591, 2009.

CARIOCA, J. O. B. et al. Processode purificação do liquido da castanha do caju (LCC) para isolamento do cardanol. **Congresso Brasileiro de P&D em Petróleo e Gás. 2005**. Disponível em: http://www.portalabpg.org.br/PDPetro/3/trabalhos/IBP0670_05.pdf, acessado em 2 de julho de 2022.

CASTRO DANTAS, T. N. et al. Novel Antioxidants From Cashew Nut Shell Liquid Applied To Gasoline Stabilization. **Fuel**. Rio de Janeiro. v. 82, p.1465-1469 , 2003.

CORREIA, S. J.; DAVID, J. P.; DAVID, J M. Metabólitos secundários de espécies deanacardiaceae. **Química Nova**, v.29, p.1287 – 1300, 2006.

DANTAS, T.N.C. et al. Novel antioxidants from cashew nut shell liquid applied to gasoline stabilization. **Fuel**,v. 82, p. 1465 - 1469, 2003.

EDOGA, M. O.; FADIPE, L.; EDOGA, R. N. Extraction of polyphenols from cashew nut shell. **Leonardo Eletronic Journal of Prattices and Technologies**, v. 9, n.1, p. 107-112, 2006.

FACANHA, M.A.R. et al. Evaluation of antioxidant properties of a phosphorated cardanol compound on mineral oils (NH10 and NH20). **Fuel**, v. 86, n. 15, p. 2416-2421, 2007.

FAÚLA, H.S.N.F. **Estudos visando a obtenção do LCC técnico e cardanol com a rastreabilidade exigida para a prospecção de produtos de interesse biotecnológico.** 2016, Monografia - Universidade de Brasília (UNB), Brasília, 2016.

FERRARA, P.; APOSTOLAKIS, J.; CAFLISCH, A. Proteins Struct.Funct. Genet. **PNAS**, Princeton, v.46, n.24, 2002.

FOKOUE, H.H. et al. **Química Nova na Escola.** Há algo novo no reconhecimento molecular à química medicinal? v. 43, n.1, p. 78-89, 2020.

GRAHAN, M. B.; TYMAN, J.H.P. Ozonization of Phenols from *Anacardium occidentale* (cashew). **Journal of the American Oil Chemist's Society**, v. 79, n. 7, 2002.

GUEDES, I. A.; MAGALHÃES, C. S.; DARDENNE, L. E. Receptor–ligand molecular docking. **Biophysical Reviews**, v. 6, p. 75–87, 2014

GUIDO, R. V. C.; OLIVA, G.; ANDRICOPULO, A. D. Structure- and ligandbased drug design approaches for neglected tropical diseases. **Pure and Applied Chemistry**, v 84, n.9, p. 1857-1866, 2012.

GUIDO, R. V. C.; ANDRICOPULO, A. D. S. Modelagem molecular de fármacos. **Revista Processos Químicos.** v.2, n.4, p. 24-36, 2008.

GUIDO, R.V.C. Planejamento de inibidores de enzima gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase de *Trypanosoma Cruzi*: biologia estrutural e química medicinal. Tese de doutorado (Programa de Pós-graduação em Física) - Instituto de Física de São Carlos (IFSC), São Carlos, 2008.

GUNSTEREN, W. F. V, et al. **Chemistry International.** Engl. v.29, p. 992, 1990.

GUIMARÃES, C.R.M. **Revista Virtual de Química.** As múltiplas contribuições para complexação Proteína-Ligante: Consequências em Drug Design. v.4, n.4, 2012.

GURYANOV, I; FIORUCCI, S; TENNIKOVA, T. Receptor-ligand interactions: Advancedbiomedical applications. **Materials Science and Engineering**, v. 68, p. 890–903, 2016.

HESS, B. et al. GROMCACS 4: algoritmos parasimulação molecular altamente eficiente, balanceada de carga e escalável, J. **Chem.Computação teórica**. v. 4, p. 435-447, 2008.
Disponível em < <https://doi.org/10.1021/ct700301q>>

HUEY, R. et al. A Semiempirical Free Energy Force Field with Charge-Based Desolvation. **Journal of Computational Chemistry**, v. 28, p. 1145–1152, 2007.

IMBROSI, D.D.O.; ARAÚJO, C.R.M. Progressos na síntese de análogos da rivastigmina a partir do líquido da castanha e caju (LCC). **Sociedade Brasileira de química**, 2006.

KITCHEN, D. et al. Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications. **Nature Reviews**, v. 3, p. 935-949, 2004.

KOEHN, F.E. Biosynthetic medicinal chemistry of natural product drugs. **Med. Chem. Commun**, v. 3, p. 854 - 865, 2012.

LIMA, L.A.; LIMA, S.N.A.; LUÍS, J.A.S. A utilização de métodos de modelagem molecular no planejamento de fármacos. **Conapesc**, Campina Grande, 2021.

LOPES, A. A. S. et al. Study of antioxidant property of a thiosphorated compound derived from cashew nut shell liquid in hydrogenated naphthenics oils. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v.25, n. 1, p. 119-127, 2008.

MAFFEZZOLI, A. et al. Cardanol based matrix biocomposites reinforced with natural fibres. **Composites Science and Technology**, v. 64, p. 839 - 845, 2004.

MAIA, F.J. **Obtenção, caracterização e aplicação de aditivos antioxidantes derivados dos principais constituintes do líquido da casca de castanha de caju**. 2015. Tese de Doutorado - Universidade Federal do Ceará, Ceará, 2015.

MATOS, J.E.X.; SILVA, F.J.A.; VIEIRA, P.B. Solventes para a extração do líquido da castanha de caju (LCC) e compatibilidade ambiental. **Revista tecnológica de Fortaleza**, v. 29, n.1, p. 101-109, 2008.

MAZZETTO, S. E.; LOMONACO, D. Óleo da castanha de caju: oportunidades e desafios no contexto do desenvolvimento e sustentabilidade industrial. **Química Nova**, v. 32, n.3, p.732 - 741, 2009.

MENG, X.Y et al. Research Gate. Molecular Docking: A Powerful Approach for Structure-Based Drug Discovery. **Research Gate**. v. 7, n.2, 2011.

MINNEMAN, K.P.; WECKER, L. **Brody farmacologia humana**. 4. ed. São Paulo: Elsevier, p. 800, 2006.

MOREIRA, L. F. B., GONZÁLEZ, G.; LUCAS, E. Estudo da Interatividade entre Macromoléculas Asfálticas e Compostos Estabilizantes: LCC e Cardanol. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**. Rio de Janeiro. v. 8, n. 3, p. 46-54, 1998.

MORGON, N. H.; COUTINHO, K. **Métodos de Química Teórica e Modelagem Molecular**. 1.ed. São Paulo: Livraria da Física, p. 540, 2007.

MWAIKAMBO, L. Y.; ANSELL, M. P. Cure Characteristics Of Alkali Catalysed CashewNut Shell Liquid-Formaldehyde Resin. **Journal Of Materials Science**. Inglaterra, v.36 p. 3693-3698, 2001.

NAMBA, A.M. et al. Dinâmica molecular: teorias e aplicações em planejamento de fármacos. **Eclética Química**, v. 33, n.4, 2008.

NASCENTE, L.D.C. et al. Síntese de novos derivados anfifílicos planejados a partir de cardanol. **Sociedade Brasileira de Química**, 2006.

NATARAJAN, M.; MURUGAVEL, S.C. Synthesis, spectral and thermal degradation kinetics of novolac resins derived from cardanol. **High Performance Polymers**, v.25, n.6, p.685-696, 2013.

NUNES, G. A. Utilização do ácido anacárdico e do cardanol como substratos para a reação de metátese e preparação de xantonas e tioxantonas. 2014, Dissertação de Mestrado-(Programa de Pós-graduação em Química) - Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Mato Grosso do Sul, 2014.

OLIVEIRA, H.V. Cajucultura. **Revista Brasileira de Fruticultura**. Foraleza, v.30, n.1, p.001-284, 2008.

OLIVEIRA, O.V. **Simulação por dinâmica molecular da enzima cruzaina do trypanosoma cruzi**. Scielo Books, Edufcar: São Paulo, 2018.

PALVANNAN, V.; BALAGURUNATAHN, K. Technical Sustainability of Cashew Nut Shell Liquid as a Renewable Fuel in Compression Ignition Engine. 63 **European Journal of Scientific Research**. Índia, v.76, n.4, p. 614-627, 2012.

PARRINELLO, M. RAHMAN, A. Polymorphic transitions in single crystals: A new molecular dynamics method. **Journal of Applied Physics** 1. v. 52, n.12, p. 7182– 7190 , 1981

PATEL, R.N. Economic Appraisal of supercritical fluid extraction of refined cashew nut shell liquid. **Bioresource Technology**, v. 97, p. 847 - 853, 2006.

PAULA, A.A.N. et al. New Potential AChE inhibitor candidates. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 44, p. 3754 - 3759, 2009

GUIMARÃES, C.R.W. As Múltiplas Contribuições para a Complexação Proteína-Ligante: Consequências em Drug Design. **Revista Virtual de Química**. v.4. n.4. Julho-Agosto, 2012.

RAO, B. S.; PALANISAMY, A. Monofunctional benzoxazine from cardanol for biocomposite applications. **Reactive and Functional Polymers**, v. 71, n.2, p. 148-154, 2011.

RAPAPORT, D. C. *The Art of Molecular Dynamics Simulation*. **Cambridge University Press**, New York, 1996.

RIOS, M. A. et al. Cashew Nut Shell Liquid: A Versatile Raw Material Utilized for Syntheses of Phosphorus Compounds. **Energy & Fuels**, v. 23, n. 11, p. 5432-5437, 2009.

RODRIGUES, R. P; et al. Estratégias de Triagem Virtual no Planejamento de Fármacos, **Revista Virtual de Química**, v. 4, n. 6, p.739- 736, dez. 2012.

ROUX, B. SIMONSON, Implicit solvent models. **Biophysical Chemistry**. v.78 n.1, p. 1-2, 1999.

RÓZ, A.L; LEITE, F.L; FERREIRA, M.; JR, O.N.O. Grandes áreas da nanociência e suas aplicações. 1. ed. São Paulo: Elsevier editora LTDA, 2015. 304p.

SALADINO, R. et al. A new and efficient synthesis of ortho - and para- benzoquinones of cardanol derivatives by the catalytic system $\text{MeReO}_3 - \text{H}_2\text{O}_2$. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.1, p. 581-586, 2000.

SALONEN, L. M.; ELLERMANN, M.; DIEDERICH, F. **Aromatic Rings in Chemical and Biological Recognition: Energeics and Strutures**. Angew: Chemie Int. Ed, v.50, 2011. p.4808.

SANTAELLA, S. T. **Emprego de fungos para o tratamento biológico de efluentes da indústria de beneficiamento da castanha do caju**. In: Anais do Simpósio Ítalo-Brasileiro de Engenharia sanitária e ambiental, Vitória, 2002

SCHWARTZ, C.; RAIBLE, J.; MOTT, K.; DUSSAULT, P.H. Reductive ozonolysis via a new fragmentation of carbonyl oxides, v. 62, p. 10747-10752, 2006.

SCHLICK,T. Modelagem e simulação molecular: um guia interdisciplinar: um guia interdisciplinar. **Springer Science & Business Media**, v.21, 2010.

SILVA, J.G. et al. Atividade antimicrobiana do extrato de *Anacardium occidentale* em amostras multirresistentes de *Staphylococcus aureus*. **Rev. Bras. Farmacongn**, v.17, n. 4, p. 572 - 577,2007.

SLEDZ, P.; CAFLISCH, A. Protein structure-based drug design: from docking to molecular dynamics. **Current in structural biology**, v.48, n. 2, p. 93-102, 2018.

TAVARES, G. G.; ALVES, S. F.; BORGES, L.L. Investigação in silico de compostos bioativos de *Croton linearifolius* Mull. Arg com atividade antidepressiva. **Revista Brasileira Militar de Ciências**, v. 6, n.16. p. 8-14, 2020.

WASSERMAN, D.; DAWSON, C. R. Cashew nut shell liquid III: the cardol component of Indian cashew nut shell liquid with reference to the liquid vesicant activity. **Journal of the American Chemical Society**, v. 70, n.10, p. 3675-3679, 1948.