

AVALIAÇÃO *IN SILICO* DA ATIVIDADE INIBITÓRIA DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS VEGETAIS FRENTE A HDAC2

Autores: João Victor de Sousa Coutinho¹, Kamila Ribeiro Damasceno², Caio Rodrigues de Aguiar¹, Lucas Inácio dos Santos Ferreira³, Ludmila Vieira Moura³, Pedro Alves Bezerra Moraes¹

¹Universidade Federal do Espírito Santo – UFES/ Programa de pós-graduação em Agroquímica, Alto Universitário, S/N – Guararema, Alegre – ES, 29500-000 – Alegre, ES, Brasil
aguiarcaio482@gmail.com, coutinho.contacts@gmail.com, pedmora2005@gmail.com

² Universidade Federal do Espírito Santo – UFES/ Departamento de Farmácia e Nutrição, Alto Universitário, S/N – Guararema, Alegre – ES, 29500-000 – Alegre, ES, Brasil
kamiladamasceno10@gmail.com

³Universidade Federal do Espírito Santo – UFES/ Departamento de Química, Avenida Fernando Ferrari, 514 – Campus Goiabeiras, Vitória – ES, 29075-910 – Vitória, ES, Brasil
lucasinaciosf@gmail.com, ludmila.moura@yahoo.com.br

Resumo

O câncer envolve múltiplos fatores de risco, incluindo alterações epigenéticas, nas quais a histona desacetilase 2 (HDAC2) exerce papel central na progressão tumoral. Este estudo avaliou, por *docking* molecular, a interação de metabólitos naturais (ácido p-cumárico, isatina, eugenol, ácido cafeico, ácido rosmarínico, linalol e capsaicina) com a HDAC2 (PDB ID: 3MAX). O redocking do ligante padrão confirmou a confiabilidade do protocolo. Entre os compostos testados, o ácido rosmarínico apresentou a maior afinidade de ligação ($\Delta G = -9,1$ kcal/mol), superior ao ligante cristalizado ($-8,6$ kcal/mol), sustentada por diversas interações hidrofóbicas e eletrostáticas. Outros fenólicos exibiram afinidade intermediária, enquanto o linalol mostrou interação desfavorável que reduziu a estabilidade do complexo. Os resultados indicam o ácido rosmarínico como candidato promissor à modulação da HDAC2, enquanto os demais metabólitos podem servir como bases estruturais para otimização farmacológica. O estudo reforça o potencial das abordagens *in silico* na triagem inicial de inibidores epigenéticos com aplicação antitumoral.

Palavras-chave: Docking molecular. HDAC2. Metabólitos naturais. Ácido rosmarínico. Inibidores epigenéticos.

Área do Conhecimento: Química Medicinal.

Introdução

O câncer engloba um conjunto de doenças de elevada complexidade, com sérias implicações para a saúde humana e responsável por elevada taxa de morbimortalidade em escala global. Seu desenvolvimento é desencadeado por uma ampla gama de fatores de risco, que incluem predisposição genética, estresse oxidativo, infecções por microrganismos, desequilíbrios hormonais e alterações epigenéticas. Além desses, hábitos de vida inadequados, como tabagismo, consumo excessivo de álcool, dietas hipercalóricas e pobres em nutrientes, sedentarismo e exposição crônica a agentes carcinogênicos ambientais, como poluentes e radiação ionizante, aumentam ainda mais o risco. Processos fisiológicos desregulados, como inflamação crônica, instabilidade genômica e falhas nos mecanismos de reparo do DNA, também contribuem significativamente para a iniciação e progressão tumoral (MANSOORI, Behzad et al., 2017).

Diante disso, as alterações epigenéticas têm se mostrado determinantes no câncer, regulando a expressão gênica sem modificar a sequência de DNA. Entre elas, as modificações pós-traducionais de histonas, mediadas por enzimas como as histonas desacetilases (HDACs), exercem papel central na remodelação da cromatina, manutenção da memória celular e controle da transcrição gênica. A

disfunção ou hiperatividade da HDAC2, em particular, está associada à progressão tumoral, tornando-a um alvo promissor para estratégias terapêuticas baseadas em inibidores específicos, inclusive de origem natural, capazes de modular sua atividade e restaurar padrões epigenéticos saudáveis. Além disso, tais modificações destacam-se por exercer um papel central na iniciação e progressão tumoral, influenciando a transcrição gênica, a organização da cromatina e a estrutura nuclear (LI, Yixuan; SETO, Edward 2016).

Com isso, metabólitos naturais, incluindo flavonoides, terpenos, ácidos fenólicos, alcaloides e cumarinas, têm sido extensivamente avaliados por abordagens *in silico* como potenciais inibidores da HDAC2, permitindo a identificação de interações moleculares-chave, previsão de afinidade de ligação e priorização de compostos para estudos experimentais subsequentes. Por isso, essas moléculas apresentam vantagens adicionais, como baixa toxicidade, diversidade estrutural e possibilidade de modificação química para otimização farmacocinética e farmacodinâmica. A integração de técnicas de docking molecular e dinâmica molecular tem potencializado o desenvolvimento racional de inibidores semissintéticos, que podem maximizar a estabilidade do complexo proteína-ligante, explorar interações hidrofóbicas e eletrostáticas e, consequentemente, aumentar a eficácia terapêutica contra células tumorais dependentes da HDAC2. (VINH, T. et al., 2025)

Por tudo isso, cabe pontuar que a técnica de *docking* molecular tem se consolidado como uma ferramenta essencial na química medicinal, permitindo prever a orientação e a afinidade de interação entre pequenas moléculas e alvos biológicos específicos. No contexto da epigenética, inibidores de histonas desacetilases (HDACs), em especial da isoforma HDAC2, têm despertado crescente interesse devido ao seu papel central na regulação da expressão gênica e na progressão tumoral. A análise dos parâmetros de energia livre de ligação (ΔG) obtidos por simulações computacionais fornece informações valiosas sobre a estabilidade dos complexos proteína-ligante e sobre o repertório de interações moleculares envolvidas, como ligações de hidrogênio, interações hidrofóbicas e contatos aromáticos do tipo π - π . Nesse sentido, o estudo de metabólitos naturais como potenciais inibidores de HDAC2 por meio de abordagens *in silico* constitui uma estratégia promissora para a identificação de novos candidatos terapêuticos (JAVID, Saleem et al., 2024).

Metodologia

O procedimento de docking molecular foi conduzido com o objetivo de avaliar a afinidade de ligação e os modos de interação de metabólitos secundários naturais frente à enzima histona desacetilase 2 (HDAC2, PDB ID: 3MAX). A estrutura cristalográfica foi obtida no Protein Data Bank e preparada no BIOVIA Discovery Studio, onde foram removidas moléculas de água não estruturais, e ligantes. Os ligantes investigados (ácido p-cumárico, isatina, eugenol, ácido cafeico, ácido rosmarínico, linalol e capsaicina) tiveram seus SMILES canônicos obtidos no PubChem e foram convertidos em estruturas tridimensionais, protonadas em pH fisiológico e energeticamente minimizadas. O redocking do ligante co-cristalizado N-(2-aminofenil)benzamida foi realizado para validação do protocolo, adotando como critério de aceitação valores de RMSD $\leq 2,0$ Å em relação à pose cristalográfica. O ensaio de docking foi então realizado na plataforma Molecule, utilizando o sítio ativo definido a partir do ligante padrão. As interações moleculares das melhores poses foram analisadas no Discovery Studio, considerando ligações de hidrogênio, interações hidrofóbicas, contatos aromáticos.

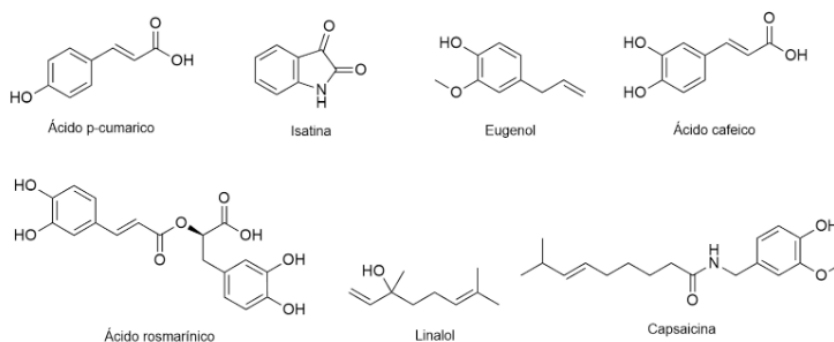
Resultados

A análise dos resultados de docking molecular das moléculas apresentadas na figura 01, frente à enzima HDAC2 revelou variações significativas nos valores de energia livre de ligação (ΔG), apresentadas na tabela 1, refletindo diretamente a estabilidade e a complementaridade das interações entre os ligantes e o sítio ativo (BÜLBÜL et al., 2022). O ligante padrão cristalizado, N-(2-aminofenil)benzamida, apresentou ΔG de -8,6 kcal/mol, compatível com sua afinidade esperada e consistente com as interações observadas na estrutura cristalográfica oriunda do PDB, sendo possível observar tais interações na figura 2. Dentre os contatos moleculares, destacaram-se ligações de hidrogênio, interações π - π empilhadas (*stacked*) e interações do tipo π -sulfúrica, as quais são fundamentais para a ancoragem do inibidor no domínio catalítico da enzima. Essas interações estabilizam o ligante em regiões estratégicas do sítio ativo, assegurando sua atividade inibitória comprovada (BRYLINSKI, 2017; MOHANTY; MOHANTY, 2023; ZHAO et al., 2015).

A Ciência do NANO e seu impacto transformador no MACRO

Entre os compostos testados, o ácido rosmarínico destacou-se ao apresentar o menor valor de ΔG (-9,1 kcal/mol), superior inclusive ao padrão cristalizado. Este desempenho pode ser atribuído ao amplo espectro de interações estabelecidas, incluindo ligações de hidrogênio, interações π - π , π - σ , π -alquil e π -sulfúricas, além de contatos hidrofóbicos por van der Waals. A combinação desses tipos de ligações demonstra um efeito sinérgico, onde interações eletrostáticas e hidrofóbicas cooperam na estabilização do complexo (ARTHUR; UZAIRU, 2019; DENG et al., 2020). Esse achado sugere o potencial do ácido rosmarínico como candidato promissor para a modulação da HDAC2, dado que a diversidade e a complementaridade das interações tendem a aumentar a força global de ligação (BÜLBÜL et al., 2022).

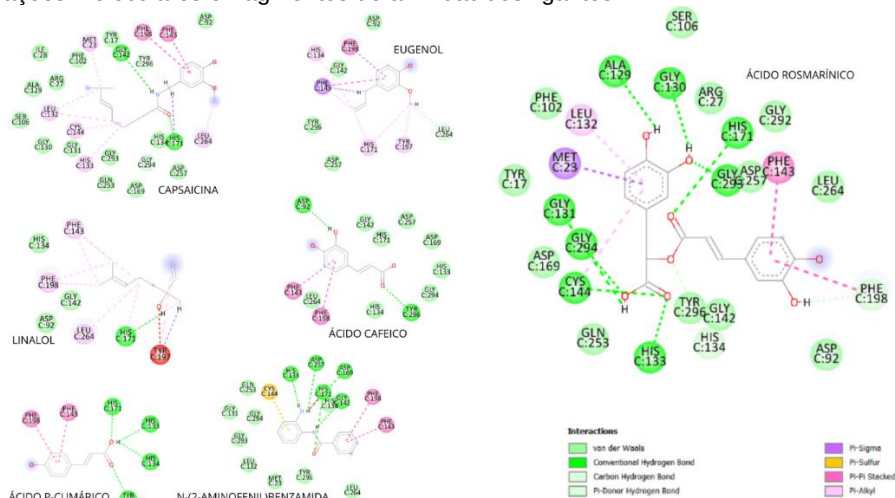
Figura 1: Estrutura molecular dos metabólitos secundários vegetais avaliados na pesquisa.



Fonte: elaborado pelo próprio autor.

Outros fenólicos avaliados, como ácido p-cumárico (ΔG = -6,8 kcal/mol), ácido cafeico (ΔG = -6,8 kcal/mol) e isatina (ΔG = -5,9 kcal/mol), apresentaram energias de ligação intermediárias, sustentadas principalmente por ligações de hidrogênio e interações π - π . Apesar de não alcançarem valores tão expressivos quanto o padrão ou o ácido rosmarínico, tais interações confirmam a afinidade dessas moléculas pelo sítio ativo. Já moléculas como eugenol (ΔG = -5,5 kcal/mol) e capsaicina (ΔG = -7,6 kcal/mol) exibiram perfis mais complexos, incluindo interações de natureza hidrofóbica (alquil, π -alquil) e contatos π - σ , sugerindo modos de ancoragem alternativos, mas ainda compatíveis com a inibição parcial da enzima (MOHANTY; MOHANTY, 2023; ZHAO et al., 2015).

Figura 2: Interações moleculares e fragmentos de aminoácidos ligantes.



Fonte: elaborado pelo próprio autor.

A Ciência do NANO e seu impacto transformador no MACRO

Um ponto particular de interesse foi observado na interação do linalol ($\Delta G = -5,6$ kcal/mol), em que, além das interações esperadas de van der Waals, π - σ , alquil e π -alquil, foi detectado um efeito denominado *unfavorable acceptor-acceptor* (VINOD et al., 2023). Esse tipo de interação desfavorável ocorre quando dois átomos aceitadores de ligação de hidrogênio (geralmente oxigênios ou nitrogênios eletronegativos) se aproximam em distâncias que não favorecem a formação de uma ligação estável, gerando repulsão estérica e/ou eletrônica. Esse fenômeno compromete a estabilidade do complexo, elevando o valor de ΔG e reduzindo a eficiência de ligação. A presença desse efeito, tanto no linalol quanto no ligante padrão em posições secundárias, destaca a importância de um balanço adequado entre doadores e aceitadores de ligação no planejamento racional de inibidores (ARTHUR; UZAIRU, 2019).

Tabela 1: Energia livre de ligação e interações moleculares derivadas do ancoramento molecular de metabólitos secundários vegetais em HDAC2.

Molécula	ΔG	Interações moleculares
N-(2-aminofenil)benzamida (Padrão cristalizado)	- 8,6 Kcal/mol	Van der waals, Ligações de hidrogênio, Pi-Pi stacked, Pi-Sulfúrica
Ácido p-cumárico	- 6,8 Kcal/mol	Ligações de hidrogênio e Pi-Pi stacked
Isatina	- 5,9 Kcal/mol	Ligações de hidrogênio e Pi-Pi stacked
Eugenol	- 5,5 Kcal/mol	Van der waals, ligações de carbono e hidrogênio, Pi-Sigma, Pi-Pi stacked, Alquil, Pi-Alquil
Ácido cafeico	- 6,8 Kcal/mol	Van der waals, Ligações de hidrogênio e Pi-Pi stacked
Ácido rosmarínico	- 9,1 Kcal/mol	Van der waals, Ligações de hidrogênio, ligação de hidrogênio doador pi, ligações de carbono e hidrogênio, Pi-Sigma, Pi-Pi stacked, Pi-Sulfúrica, Pi-Alquil
Linalol	- 5,6 Kcal/mol	Van der Waals, Ligações de hidrogênio, Pi-sigma, Alquil, Pi-Alquil, unfavorable acceptor-acceptor
Capsaicina	- 7,6 Kcal/mol	Van der waals, Ligações de hidrogênio, Ligações de carbono e hidrogênio, Pi-Sigma, Pi-Pi stacked, Alquil, Pi-Alquil

Fonte: elaborado pelo próprio autor.

Discussão

De forma geral, a análise comparativa demonstra que a estabilidade do complexo proteína-ligante depende não apenas da quantidade de interações, mas sobretudo de sua qualidade e complementaridade. Ligações de hidrogênio bem orientadas e interações π - π consistentes foram cruciais para os melhores desempenhos observados. Por outro lado, interações desfavoráveis, como a *acceptor-acceptor*, mesmo que pontuais, podem comprometer de maneira significativa o potencial de afinidade global (VINOD et al., 2023; DENG et al., 2020; ARTHUR; UZAIRU, 2019). Esses achados ressaltam a relevância da caracterização detalhada dos tipos de forças envolvidas no docking molecular como ferramenta para o aprimoramento de candidatos bioativos em etapas posteriores de estudos *in silico* e *in vitro*.

Do ponto de vista da química medicinal, o ácido rosmarínico constitui uma plataforma privilegiada para a derivatização. A introdução de núcleos heterocíclicos com características eletrônicas favoráveis, como o anel triazólico, poderia intensificar as interações direcionais, além de modular

propriedades farmacocinéticas relevantes, como lipofilicidade e permeabilidade de membrana. Da mesma forma, modificações estruturais do tipo *me-too* possibilitaram ajustes finos mantendo a farmacodinâmica essencial, mas ampliando a eficácia inibitória e o perfil de biodisponibilidade. Assim, a integração entre a versatilidade estrutural do ácido rosmarínico e estratégias clássicas da química medicinal oferece um caminho promissor para o desenvolvimento de moléculas semissintéticas com elevado potencial terapêutico (ARONSON; GREEN, 2020; AMINI-RENTSCH et al., 2019).

Apesar do desempenho inferior em relação ao ácido rosmarínico e ao ligante padrão, compostos como ácido p-cumárico, ácido cafeico, isatina e eugenol representam pontos de partida valiosos para a aplicação de estratégias de otimização estrutural. Essas moléculas exibiram valores de ΔG entre -5,5 e -6,8 kcal/mol, sustentados majoritariamente por ligações de hidrogênio e interações π - π (DENG et al., 2020; ARTHUR; UZAIRU, 2019). Embora tais interações indiquem afinidade com a HDAC2, a ausência de uma rede mais diversificada de forças de ligação limita a estabilidade do complexo. Nesse contexto, modificações semissintéticas que promovam o aumento da densidade eletrônica, a inserção de substituintes aromáticos adicionais ou a adição de heteroátomos em posições estratégicas poderiam aumentar a capacidade dessas moléculas de estabelecer contatos mais fortes e múltiplos com o sítio ativo (BÜLBÜL et al., 2022).

O eugenol, por exemplo, já apresenta um perfil interessante de interações hidrofóbicas (π - σ , π - π stacked, π -alquil), porém carece de ligações de hidrogênio mais consistentes, que são cruciais para a ancoragem estável ao sítio catalítico (DENG et al., 2020; ARTHUR; UZAIRU, 2019). A introdução de grupos funcionais doadores ou aceitadores de hidrogênio em sua estrutura aromática poderia favorecer tais interações, além de expandir o repertório de contatos eletrostáticos (ZHAO et al., 2015; BRYLINSKI, 2017). De maneira semelhante, isatina, embora apresente ligações de hidrogênio, mostrou ΔG relativamente alto (-5,9 kcal/mol), o que sugere necessidade de modificações que aumentem a planaridade e favoreçam o empilhamento π - π com resíduos aromáticos da proteína. Estratégias como a halogenação seletiva ou a fusão com heterociclos poderiam potencializar esse efeito (PAUL; VIJAY LUXAMI; SHARMA, 2025).

De forma geral, os compostos com ΔG menos expressivo ainda demonstram potencial relevante quando considerados sob a ótica da química medicinal. A introdução de modificações estruturais direcionadas, seja pela adição de núcleos heterocíclicos, hibridização molecular ou substituições que favoreçam o balanço eletrostático, representa uma oportunidade concreta de transformar ligantes de afinidade moderada em candidatos mais competitivos. Assim, a utilização de metabólitos secundários como matrizes químicas, mesmo aqueles com desempenho inicial menos favorável, configura-se como uma abordagem estratégica para a expansão do arsenal de inibidores potenciais da HDAC2 (BÜLBÜL et al., 2022; MOHANTY; MOHANTY, 2023).

Conclusão

Os resultados presente neste trabalho de estudo *in silico* demonstraram o potencial de metabólitos secundários vegetais como inibidores da HDAC2, tendo como destaque maior o ácido rosmarínico, cujo desempenho superou o ligante padrão cristalizado, evidenciando elevada afinidade de ligação e diversidade de interações moleculares. Compostos como ácidos fenólicos simples, isatina e eugenol, ainda que com menor estabilidade, são extremamente necessários para a derivatização e otimizações farmacodinâmicas. Observou-se que a qualidade das interações moleculares foi determinante para a estabilidade dos complexos, enquanto efeitos desfavoráveis apontam a necessidade de modificações estruturais racionais. Sendo assim, este estudo reforça a importância de abordagens computacionais como etapa preliminar na identificação de candidatos terapêuticos e no avanço do desenvolvimento de novas terapias antitumorais baseadas na modulação epigenética da HDAC2.

Referências

MANSOORI, Behzad; MOHAMMADI, Ali; DAVUDIAN, Sadaf; SHIRJANG, Solmaz; BARADARAN, Behzad. **The different mechanisms of cancer drug resistance: a brief review.** *Advances in Pharmacological Sciences*, v. 7, n. 3, p. 339–348, 2017.

LI, Yixuan; SETO, Edward. **HDACs and HDAC inhibitors in cancer development and therapy**. Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine, Cold Spring Harbor, v. 6, n. 10, p. a026831, 3 out. 2016.

JAVID, Saleem; RAHMANULLA, Abdul; AHMED, Mohammed Gulzar; SULTANA, Rokeya; KUMAR, PBR. **Machine learning & deep learning tools in pharmaceutical sciences: A comprehensive review**. Intelligent Pharmacy, v. 3, n. 3, p. 159-242, jan. 2025.

VINH, T. et al. **In silico identification of Histone Deacetylase inhibitors**. Journal of Molecular Graphics and Modelling, v. 115, p. 108-118, 2025.

BÜLBÜL, E. F. et al. **Docking, Binding Free Energy Calculations and In Vitro Characterization of Pyrazine Linked 2-Aminobenzamides as Novel Class I Histone Deacetylase (HDAC) Inhibitors**. Molecules, v. 27, n. 8, p. 2526–2526, 14 abr. 2022.

DENG, J.-H. et al. π - π stacking interactions: **Non-negligible forces for stabilizing porous supramolecular frameworks**. Science Advances, v. 6, n. 2, p. eaax9976, jan. 2020.

MOHANTY, M.; MOHANTY, P. S. **Molecular docking in organic, inorganic, and hybrid systems: a tutorial review**. 6 jun. 2023.

ZHAO, Y. et al. **Conformational Preferences of π - π Stacking Between Ligand and Protein, Analysis Derived from Crystal Structure Data Geometric Preference of π - π Interaction**. Interdisciplinary Sciences: Computational Life Sciences, v. 7, n. 3, p. 211–220, set. 2015.

BRYLINSKI, M. **Aromatic interactions at the ligand-protein interface: Implications for the development of docking scoring functions**. Chemical Biology & Drug Design, v. 91, n. 2, p. 380–390, 31 ago. 2017.

ARTHUR, D. E.; UZAIRU, A. **Molecular docking studies on the interaction of NCI anticancer analogues with human Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit**. Journal of King Saud University - Science, v. 31, n. 4, p. 1151–1166, out. 2019.

VINOD et al. **Complexity of the Role of Various Site-Specific and Selective Sudlow Binding Site Drugs in the Energetics and Stability of the Acridinedione Dye–Bovine Serum Albumin Complex: A Molecular Docking Approach**. ACS Omega, v. 8, n. 6, p. 5634–5654, 3 fev. 2023.

PAUL, K. D.; VIJAY LUXAMI; SHARMA, P. **C–H Bond Halogenation: Unlocking Regiodivergence and Enhancing Selectivity through Directing Group Strategies**. Organic Chemistry Frontiers, 1 jan. 2025.

AMINI-RENTSCH, L. et al. **A Novel and Efficient Continuous-Flow Route To Prepare Trifluoromethylated N-Fused Heterocycles for Drug Discovery and Pharmaceutical Manufacturing**. Industrial & Engineering Chemistry Research, v. 58, n. 24, p. 10164–10171, 27 maio 2019.

ARONSON, J. K.; GREEN, A. R. **Me-too pharmaceutical products: History, definitions, examples, and relevance to drug shortages and essential medicines lists**. British Journal of Clinical Pharmacology, v. 86, n. 11, 13 maio 2020.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Fundação de Amparo Pesquisa do Espírito Santo (FAPES).