

STEPHANI SILVA FERREIRA

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA DE DERIVADOS
DITIOCARBAMATOS VIA MODELAGEM MOLECULAR

Monografia apresentada ao Departamento de
Química da Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências para a conclusão do
Curso de Bacharelado em Química.

Orientador: Daniele Cristiane Menezes

VIÇOSA – MINAS GERAIS
2022

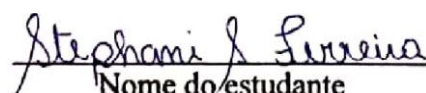
STEPHANI SILVA FERREIRA

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA DE DERIVADOS
DITIOCARBAMATOS VIA MODELAGEM MOLECULAR

Monografia apresentada ao Departamento de
Química da Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências para a conclusão do
Curso de Bacharelado em Química.

Orientador: Daniele Cristiane Menezes

APROVADO: 20, 12, 2022.


Nome do estudante
(Autor)


Nome da orientadora
(Orientadora)

Dedico este trabalho aos meus pais e ao meu irmão

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pela vida, por ter me dado saúde, força e determinação para ultrapassar todos os obstáculos.

Aos meus pais, Rosemeire e Gelson, que sempre me apoiaram em todas as decisões e estiveram ao meu lado em todos os momentos. Obrigada por todo amor, carinho e palavras de incentivo.

Ao meu irmão Gelson Júnior, que sempre esteve ao meu lado nos momentos difíceis. Obrigado pelo incentivo e por me fazer acreditar que era possível.

Aos meus avós por todo o amor e apoio incondicional.

À toda a minha família, especialmente à minha tia Neide, pelo suporte.

Aos meus amigos pelo carinho e palavras de incentivo.

À professora e orientadora Daniele Menezes, pelos ensinamentos, paciência e valiosas contribuições durante toda a realização deste trabalho.

Aos professores da UFV que contribuíram para minha formação acadêmica e profissional.

À todas as pessoas que participaram e contribuíram para a minha trajetória.

RESUMO

FERREIRA, Stephani, monografia de conclusão do Curso de Bacharelado em Química. Universidade Federal de Viçosa, dezembro, 2022. **Avaliação da atividade anti-inflamatória de derivados ditiocarbamatos via modelagem molecular**. Orientadora: Daniele Cristiane Menezes.

A inflamação ou processo inflamatório possui um complexo mecanismo de reação do organismo frente à alguma agressão sendo responsável por manter sua integridade. Trata-se, portanto, de um mecanismo de defesa do organismo o qual atua no sentido de neutralizar o agente agressor que pode ser, por exemplo, um microorganismo ou mesmo uma doença autoimune, acionando-o para os eventos de cicatrização e regeneração. Processos inflamatórios estão frequentemente associados a várias doenças autoimunes, como lúpus ou artrite reumatóide, ou a outras patologias, como hipertensão arterial sistêmica, diabetes *mellitus* e no surgimento de tumores. Além disso, recentemente tem-se relatado na literatura o papel da inflamação em condições neurológicas, neuropsiquiátricas e metabólicas, como, epilepsia, transtornos de ansiedade e obesidade. Desta forma, a importância de processos inflamatórios é demonstrada através do interesse pela busca e utilização de novos compostos ativos que assumam propriedades anti-inflamatórias, ou seja, inibam proteínas e enzimas diretamente relacionadas aos mesmos, como as ciclooxigenases 1 e 2 (COX-1 e COX-2), prostaglandinas, tromboxanos, NO sintase, entre outras. Entre esses compostos ativos, destacam-se na literatura fármacos como o ácido acetilsalicílico, também conhecido por aspirina, o ácido mefenâmico, ibuprofeno, paracetamol e corticóides. Neste contexto, sabe-se que compostos intitulados ditiocarbamatos também possuem propriedades que os tornam aptos a inibir importantes processos enzimáticos. Assim, o objetivo principal deste trabalho é estudar as possíveis atividades anti-inflamatórias de onze derivados ditiocarbamatos com estruturas distintas. Para tal fim, foi utilizada a técnica computacional de *docking* molecular, com o emprego do software *Arguslab*, para a análise desses onze derivados diante de sete diferentes enzimas de resposta inflamatória, sendo elas, a sintase de prostaglandina, cinco ciclooxigenases do tipo COX-2 com diferentes sítios ativos co-cristalizados (ácido araquidônico, ácido mefenâmico, fármacos diclofenaco e ibuprofeno, além de salicilato) e NO sintase. Assim, com o auxílio do software pôde-se obter as energias de interação dos sistemas ditiocarbamato-enzima em kcal/mol, e posteriormente por meio desses dados, calcular a constante de inibição (K_i) e o RMSD (*root-mean-square deviation*) de cada interação. As estruturas cristalográficas dos ditiocarbamatos, foram obtidas através do banco de dados *PubChem*, já as estruturas cristalográficas das enzimas foram extraídas da biblioteca virtual *Protein Data Base (PDB)*. Os compostos foram também

avaliados com o emprego da plataforma virtual *SwissADME* com obtenção de dados farmacocinéticos e toxicológicos. Dessa forma, pôde-se observar que os compostos benzilditiocarbamato e dipropilditiocarbamato apresentaram os melhores resultados frente as avaliações realizadas destacando-se para todas as enzimas de resposta inflamatória e apresentando parâmetros toxicológicos satisfatórios com energias de afinidade aproximadamente de -7,00 a -10,0 kcal/ml, respectivamente.

Palavras-chaves: atividade anti-inflamatória, ditiocarbamatos e docking molecular.

ABSTRACT

FERREIRA, Stephani, Undergraduate Final Paper Submitted to the Department of Chemistry in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Bachelor in Chemistry, Universidade Federal de Viçosa, december, 2022.

Evaluation of the anti-inflammatory activity of dithiocarbamate derivatives via molecular modeling. Advisor: Daniele Cristiane Menezes.

Inflammation or inflammatory process has a complex reaction mechanism of the body against some aggression being responsible for maintaining its integrity. It is, therefore, a defense mechanism of the organism which acts to neutralize the aggressive agent that can be, for example, a microorganism or even an autoimmune disease, triggering it for healing and regeneration events. Inflammatory processes are often associated with various autoimmune diseases, such as lupus or rheumatoid arthritis, or with other pathologies, such as systemic arterial hypertension, diabetes mellitus and the appearance of tumors. In addition, the role of inflammation in neurological, neuropsychiatric and metabolic conditions, such as epilepsy, anxiety disorders and obesity, has recently been reported in the literature. In this way, the importance of inflammatory processes is demonstrated through the interest in the search and use of new active compounds that assume anti-inflammatory properties, that is, inhibit proteins and enzymes directly related to them, such as cyclooxygenases 1 and 2 (COX-1 and COX-2), prostaglandins, thromboxanes, NO synthase, among others. Among these active compounds, drugs such as acetylsalicylic acid, also known as aspirin, mefenamic acid, ibuprofen, paracetamol and corticoids stand out in the literature. In this context, it is known that compounds called dithiocarbamates also have properties that make them capable of inhibiting important enzymatic processes. Thus, the main objective of this work is to study the possible anti-inflammatory activities of eleven dithiocarbamate derivatives with distinct structures. For this purpose, the computational technique of molecular docking was used, with the use of the Arguslab software, for the analysis of these eleven derivatives in the face of seven different enzymes of inflammatory response, namely, prostaglandin synthase, five cyclooxygenases of the COX-2 type with different co-crystallized active sites (arachidonic acid, mefenamic acid, drugs diclofenac and ibuprofen, in addition to salicylate) and NO synthase. Thus, with the aid of the software, it was possible to obtain the interaction energies of the dithiocarbamate-enzyme systems in kcal/mol, and later, using these data, to calculate the inhibition constant (K_i) and the RMSD (root-mean-square deviation) of each interaction. The crystallographic structures of the dithiocarbamates were obtained through the PubChem database, while the crystallographic structures of the enzymes were extracted from the Protein Data Base (PDB) virtual library. The

compounds were also evaluated using the SwissADME virtual platform to obtain pharmacokinetic and toxicological data. Thus, it was possible to observe that the compounds benzylthiocarbamate and dipropylthiocarbamate presented the best results in the face of the evaluations carried out, standing out for all the enzymes of the inflammatory response and presenting satisfactory toxicological parameters with affinity energies of approximately -7.00 to -10,0 kcal/ml, respectively.

Keywords: anti-inflammatory activity, dithiocarbamates and molecular docking.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. DOCKING MOLECULAR	3
2.2. A INFLAMAÇÃO	4
2.3. ENZIMAS DE RESPOSTA INFLAMATÓRIA	5
2.4. COMPOSTOS DITIOCARBAMATOS	8
3. OBJETIVOS	9
3.1. OBJETIVOS GERAIS	9
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	10
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	10
4.1. MATERIAIS	10
4.2. MÉTODOS	11
4.2.1. DOCKING MOLECULAR	11
4.2.2. OBTENÇÃO DAS ENZIMAS E LIGANTES SELECIONADOS	11
4.2.3. CÁLCULO TEÓRICO DA CONSTANTE DE INIBIÇÃO, K_i	12
4.2.4. FERRAMENTA SWISSADME.....	12
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	12
5.1. AVALIAÇÃO DAS ENERGIAS DE AFINIDADE, CONSTANTES DE INIBIÇÃO (K_i) E DO PARÂMETRO RMSD	12
5.2. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE TOXICOLÓGICA E FARMACOCINÉTICA	19
6. CONCLUSÃO	22
7. REFERÊNCIAS	23
8. ANEXOS	25

1. Introdução

A Química Medicinal compreende o estudo e aspectos das ciências biológica, médica e farmacêutica, com os objetivos de planejar, descobrir, inventar, identificar e preparar compostos biologicamente ativos, além de determinar parâmetros que correlacionem a estrutura-atividade destes [1]. Sendo assim, esta é uma área do conhecimento extremamente importante no processo de desenvolvimento de novos medicamentos, necessários para a diminuição de dores, desconfortos e tratamento de doenças, sendo grandes aliados para aumentar a qualidade de vida dos indivíduos [2].

A busca e a utilização de compostos bioativos para fins terapêuticos ocorrem desde a antiguidade, quando os medicamentos utilizados eram a base principalmente de produtos naturais, como plantas e metabólitos de microrganismos, usados para combater dores e inflamações [3]. Porém, com o avanço da ciência e tecnologia, os estudos de novos fármacos não se restringem mais a substâncias isoladas de plantas, visando atualmente produzir ou isolar compostos mais ativos frente ao seu alvo biológico e com menor toxicidade [4]. Esse processo culminou na descoberta do ácido acetilsalicílico (figura 1), um dos primeiros fármacos semissintéticos baseado em uma substância isolada de planta [3].

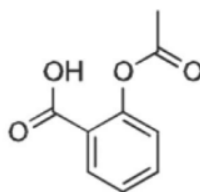


Figura 1: Representação estrutural do ácido acetilsalicílico.

A salicina, princípio ativo encontrado na casca do salgueiro *Salix alba*, era conhecida desde a antiguidade por seus efeitos analgésicos através do cozimento ou mastigação das folhas de salgueiro. Porém, no início do século XIX, a salicina começou a ser extraída e purificada, para logo ser estudada por Felix Hoffmann em 1897. Assim, através do principal metabólito da salicina, o ácido salicílico, Hoffman sintetizou e testou o composto que chamamos hoje de aspirina, que por sua eficaz atividade anti-inflamatória, incentivou a investigação e possibilitou a síntese de novos fármacos [3,5].

Os processos inflamatórios são uma das respostas corporais mais importantes fornecidas pelo sistema imunológico, pois atuam no sentido de neutralizar um agente agressor, estimulando a regeneração das células [6,7]. A resposta inflamatória controlada é benéfica, porém quando não diminui, pode acarretar no surgimento de várias doenças, como câncer, artrite reumatóide, hipertensão arterial sistêmica, diabetes *mellitus*, obesidade e doenças

degenerativas como Alzheimer [6]. Desta forma, a prevenção e supressão desse processo são necessários. Ademais, os anti-inflamatórios disponíveis no mercado não são isentos de efeitos colaterais, havendo, portanto, um interesse constante pela busca e utilização de novos compostos ativos que assumam propriedades anti-inflamatórias e que sejam não tóxicos ou menos tóxicos [7]. Esses compostos inibem proteínas e enzimas diretamente relacionadas aos processos inflamatórios, como as ciclooxigenases 1 e 2 (COX-1 e COX-2), prostaglandinas, tromboxanos, NO sintase, entre outras [8].

Neste contexto, os ditiocarbamatos (figura 2) têm se mostrado possíveis candidatos a fármacos versáteis devido ao seu amplo perfil terapêutico, relatados na literatura com propriedades anticancerígenas, antifúngicas, antibacterianas, entre outras [9]. Os ditiocarbamatos são compostos já conhecidos pela comunidade científica por inibir importantes processos enzimáticos, correlacionados ao desenvolvimento de diversas doenças como câncer, glaucoma, obesidade, hipertensão e osteoporose, por exemplo [10]. Além disso, dietil e pirrolidino ditiocarbamatos são fármacos auxiliares na clínica médica atuando como agentes quelantes nos casos de intoxicação por metais ou na quimioterapia do câncer, sobretudo com o emprego de fármacos à base de platina [10]. Desta forma, as propriedades potenciais exibidas pelos ditiocarbamatos estimulam a investigação da atividade biológica ou potencial farmacológico dessas substâncias, além de possíveis mecanismos de ação baseados na inibição enzimática.

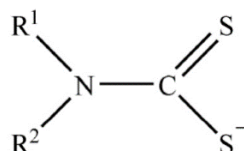


Figura 2: Representação geral de um ditiocarbamato.

Atualmente, uma das etapas de descoberta de um alvo terapêutico está na utilização de estratégias de planejamento ou modelagem molecular para desenho de ligantes do alvo selecionado, através de técnicas como bioisosterismo ou computacionais como *docking* molecular [1]. Na indústria farmacêutica a utilização de técnicas de modelagem molecular tem o objetivo de contribuir para o aumento da taxa de acerto na seleção de novos candidatos a fármacos, já que além de identificar novos ligantes, prediz o reconhecimento destes por um determinado bioreceptor (enzima, proteína ou macromolécula biológica) [1]. Dessa forma, através do auxílio de bancos de dados virtuais, o processo de desenvolvimento de novos medicamentos é otimizado, o qual possui uma alta taxa de insucesso devido à perda de eficácia clínica e propriedades farmacocinéticas inadequadas, por exemplo [1].

Sendo assim, por intermédio da técnica de *docking* molecular com o emprego do software *Arguslab*, esse trabalho tem a finalidade de avaliar a possível atividade anti-inflamatória de onze derivados ditiocarbamatos com diferentes estruturas, frente a sete enzimas de resposta inflamatória, com obtenção das energias de afinidade em Kcal/mol e constantes de inibição para os complexos ditiocarbamatos-enzimas.

2. Revisão de literatura

2.1. *Docking molecular*

A descoberta e desenvolvimento de novos fármacos é considerada por diversos especialistas como uma atividade multidisciplinar de elevada complexidade, alto custo e lenta que envolve a aplicação de técnicas e metodologias modernas [1]. Além disso, as etapas envolvidas nas fases pré-clínica e clínica deste processo são realizadas por anos, prevalecendo uma taxa de insucesso superior a 90%, principalmente devido à perda de eficácia clínica, propriedades farmacocinéticas inadequadas, toxicidade, reações adversas, razões comerciais e limitações farmacotécnicas [1]. Entretanto, diversas metodologias sintéticas têm contribuído para a otimização deste processo, como técnicas computacionais de *docking* e modelagem molecular, visando contribuir para o aumento da taxa de acerto no processo de seleção de novos candidatos a fármacos [1].

A seleção de um candidato a fármaco começa a partir de uma estrutura alvo conhecida e logo são realizados estudos *in silico* para identificar potenciais ligantes [11]. Ressalta-se que o termo *in silico* se refere à uma simulação computacional correlacionada às expressões do latim *in vivo* e *in vitro*. Esses procedimentos de modelagem molecular são seguidos pela síntese dos compostos mais promissores, e em seguida, são realizadas avaliações de propriedades biológicas como potência, afinidade e eficácia [11].

As teorias envolvidas na explicação da atividade farmacológica sustentam-se no paradigma da “chave-fechadura” [2]. Sendo as “fechaduras” ou receptores celulares, as biomacromoléculas, responsáveis pelo reconhecimento molecular de espécies capazes de apresentar atividade biológica que interagem com as moléculas bioativas (mediadores celulares e fármacos), consideradas neste modelo como as “chaves” [2]. Desta forma, os complexos formados por essa interação provocam as respostas biológicas [2]. Portanto, o *docking* molecular pode ser descrito como um método essencial de triagem virtual baseado na estrutura do alvo, pois pode prever a *pose*, melhor orientação de ajuste de um ligante em uma proteína, além da intensidade dessa interação [12].

O *docking* ou ancoragem molecular, é uma técnica capaz de triar milhares de ligantes (que são geralmente pequenas moléculas a serem testadas) de bases de dados virtuais, contra um determinado bioreceptor (enzima, proteína ou macromolécula biológica) [12]. Além disso, um dos principais objetivos dessa técnica é a obtenção de um complexo intermolecular estável com uma conformação otimizada que possua a menor energia livre de ligação [13]. Essa energia está em função de parâmetros como ligações de hidrogênio e outras interações intermoleculares; eletrostática; energia livre de torção; dispersão; repulsão e energia interna total, de forma que a compreensão dessa energia oferece informações sobre os diferentes tipos de interações presentes no complexo ligante-receptor [13].

Portanto, para seu objetivo, dentro de um prazo razoável, os softwares utilizam uma função de ranqueamento empírico baseados na resposta da energia livre de interação do complexo ligante-receptor, que é dividido em diferentes componentes como descrito a seguir:

$$\Delta G = \Delta G_{\text{Van der Waals}} + \Delta G_{\text{hidrofóbico}} + \Delta G_{\text{ligação de H}} + \Delta G_{\text{deformação}} + \Delta G_{\text{entropia}} \text{ (Equação 1)}$$

Considerando $\Delta G_{\text{Van der Waals}}$, as interações de Van der Waals entre o ligante e a proteína; $\Delta G_{\text{hidrofóbico}}$ o efeito hidrofóbico, diretamente relacionado com mudanças na rede de ligações de hidrogênio da água na presença de uma superfície hidrofóbica; $\Delta G_{\text{ligação de H}}$ as ligações de hidrogênio entre os ligantes e a proteína; $\Delta G_{\text{deformação}}$ o efeito de deformação nos comprimentos e ângulos das ligações e o $\Delta G_{\text{entropia}}$ os efeitos de perda de entropia translacional e rotacional durante o processo de ligação [14].

Para a avaliação da deformação ou similaridade estrutural do complexo enzima-ligante, utiliza-se o parâmetro RMSD (*root mean squared distance* ou deslocamento quadrático médio) [15,16]. Estes cálculos desempenham um papel fundamental na comparação de diferentes conformações do mesmo ligante, através do alinhamento e sobreposição dos átomos das estruturas analisadas [15,16]. Dessa forma, a partir deste parâmetro encontra-se o complexo com a melhor conformação, ou seja, aquele que apresenta o menor valor de RMSD, que nesse contexto deve ser um valor abaixo de 2Å (ângstroms) [15].

2.2. A inflamação

O interesse pela busca e utilização de compostos bioativos para fins terapêuticos ocorre desde a antiguidade, com o intuito de combater dores, febre e inflamação de tecidos, causadas principalmente por traumas ou doenças reumatológicas [13]. Essa busca por saberes culminou na descoberta do primeiro medicamento anti-inflamatório cientificamente divulgado, o ácido

acetilsalicílico, popularmente conhecido como Aspirina [3]. Embora seu mecanismo de ação tenha permanecido desconhecido por mais de 70 anos, sua investigação, possibilitou a síntese de novos fármacos com ação anti-inflamatória [3]. Tais fármacos, como diclofenaco, dipirona, paracetamol, entre outros, são importantes aliados para a diminuição do desconforto e para o aumento da qualidade de vida do indivíduo.

A inflamação é um processo complexo no mecanismo de defesa do organismo para a proteção contra lesões, infecções microbianas e doenças. A reação inflamatória inclui reguladores celulares e plasmáticos que limitam sua ação e combatem o corpo invasor [17]. As inflamações se classificam por seu grau de intensidade, sendo elas aguda e crônica. A inflamação aguda tem curta duração, apresentando substâncias liberadas na área tecidual lesada que coordenam o processo da resposta inflamatória, ou seja, mediadores como as aminas vasoativas e metabólitos do ácido araquidônico, que incluem as prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos, envolvidos nesse processo [18]. Já a inflamação crônica tem uma maior duração, caracterizada pela ocorrência simultânea da ativação inflamatória e destruição tecidual [18]. Esse processo pode evoluir dependendo do tempo da injúria, permanência do agressor e da dificuldade do organismo em eliminar o dano tecidual ou celular, evoluindo o quadro de inflamação, juntamente com a produção de linfócitos, células de defesa [18]. Se a inflamação aguda persistir por muito tempo, pode levar a distúrbios inflamatórios graves sistêmicos ou crônicos que resultam em consequências danosas gerais sobre as células e tecidos do hospedeiro e conseqüentemente, ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares ou câncer [17].

Os anti-inflamatórios são fármacos utilizados para a eliminação ou atenuação de algum desconforto corporal ou febre causado pela reação de defesa do organismo frente a algum edema ou inchaço resultado de uma doença, trauma, alergia ou queimaduras [4]. Estes medicamentos minimizam os efeitos causados pela defesa do organismo, de forma a não anular essa reação imunológica, ativando a circulação local [4].

A grande quantidade de medicamentos com atividade anti-inflamatória é justificada pelo vasto significado biológico dos processos inflamatórios, visto que podem ser utilizados em diversas situações, de infecções à doenças autoimunes, ou em casos como tumores e transplantes de órgãos [13]. Ainda assim, todos agem em alguma etapa inflamatória, inibindo frequentemente enzimas como as ciclooxigenases (COX-1 e COX-2) e as sintases de prostaglandinas e tromboxanos. Portanto os fármacos anti-inflamatórios estão entre os medicamentos mais prescritos do mundo, devido a sua diversidade de indicações.

2.3. Enzimas de resposta inflamatória

Através da inflamação resultante de um ataque microbiano, alérgeno ou patógeno ou devido a uma quebra metabólica intracelular, o organismo aciona uma resposta imune que garante a eliminação do agente invasor, iniciando mecanismos de reparo celular para restaurar a homeostase tecidual [19]. Esse reparo ocorre, pois, uma vez instalada a lesão tecidual, a liberação de mediadores inflamatórios e a degradação dos fosfolipídios de membrana celular, ativam a produção de ácido araquidônico (AA) que passa a ser o substrato de diferentes enzimas [18]. As ciclooxigenases (COXs) atuam nesse processo, convertendo o ácido araquidônico em prostaglandinas e tromboxanos. Eles oxigenam o ácido araquidônico ao hidroperóxido endoperóxido PGG₂ (prostaglandina G₂), seguido pela redução do PGG₂ ao álcool PGH₂ (figura 3). PGH₂ é convertido por isomerases em prostaglandinas e tromboxano, metabólitos pró-inflamatórios que exercem numerosos efeitos fisiológicos e fisiopatológicos [20]. A isoforma COX-2 da família COX de enzimas, por exemplo, inflige a biossíntese de prostaglandinas pró-inflamatórias as quais desempenham um papel crítico no desenvolvimento de asma aguda e distúrbios relacionados, aterosclerose, arteriosclerose, síndrome do intestino irritável e câncer [19].

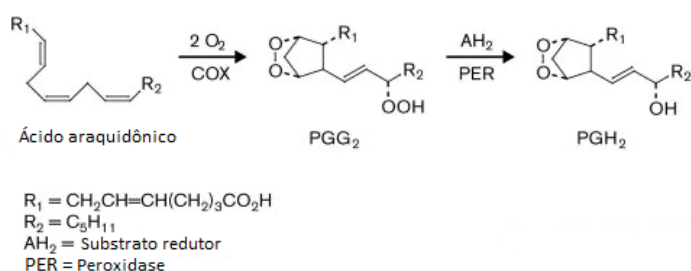


Figura 3: A conversão do ácido araquidônico em PGH.

A ciclooxigenase, enzima central da resposta inflamatória, está presente em muitas células do corpo [4]. Atualmente são conhecidas três isoformas dessa enzima, a COX-1, COX-2 e COX-3 [4]. A ciclooxigenase 1 (COX-1) possui grande amplitude tecidual, inclusive nas plaquetas do sangue [4]. Seu papel é fazer a manutenção no organismo onde, sob condições fisiológicas, produz prostaglandinas necessárias à modulação das funções citoprotetoras gastrointestinais, renais e a homeostase vascular, ou seja, condição de relativa estabilidade da qual o organismo necessita para realizar suas funções adequadamente [4,18]. Essa enzima também é a principal responsável pela produção de prostanoides, mediadores inflamatórios [4]. A ciclooxigenase 2 (COX-2) está presente predominantemente no cérebro e medula espinhal. Ela é uma enzima induzida na maioria dos tecidos com exceção dos rins e epitélio, ou seja, depende da reação de células inflamatórias ativadas em resposta a agentes como fatores de crescimento ou promotores de tumores [4,18]. Já ciclooxigenase 3 (COX3) é uma variante do

gene da COX-1, abundantemente encontrada em tecido encefálico e cardíaco, no entanto ainda não se sabe ao certo qual é o seu papel específico, apenas que sua atividade pode ser inibida por fármacos como paracetamol e dipirona [4,18].

Tanto a isoforma COX-1 quanto a isoforma COX-2, apresentam alta homologia em suas sequências de aminoácidos no sítio ativo, cerca de 60% [19]. Porém se diferenciam pela substituição dos aminoácidos isoleucina 523 (ILE523), histidina 513 (HIS513) e isoleucina 434 (ILE434) presentes na isoforma COX-1, pelos aminoácidos valina 523 (VAL523), arginina 513 (ARG513) e valina 434 (VAL434) na isoforma COX-2 [19]. Essas alterações fazem o sítio ativo da COX-2 ser 25% maior que o da COX-1, além de permitir que COX-2 seja capaz de oxigenar uma variedade maior de compostos que não são processados por COX-1, possibilitando o planejamento de anti-inflamatórios mais específicos [19].

Após a estimulação inflamatória, células do sistema imunológico (macrófagos) geram uma diversidade de mediadores inflamatórios como as prostaglandinas e o óxido nítrico (NO) [17]. As prostaglandinas são influentes mediadores inflamatórios lipídicos produzidos pela via COX e distribuídos no corpo humano. Essas enzimas são os produtos metabólicos mais abundantes, que exercem uma vasta gama de funções em diferentes processos fisiológicos e patológicos, incluindo vasodilatação ou vasoconstrição, contração ou relaxamento da musculatura brônquica ou uterina, hipotensão, aumento do fluxo sanguíneo renal, inibição da secreção gástrica, resposta imunológica, entre outras [18]. Desta forma, estão envolvidas nos cinco sinais principais do processo inflamatório, ou seja, calor, vermelhidão, inchaço (edema), dor e perda de função [18].

O calor e a vermelhidão são consequências da vasodilatação, que aumenta a circulação sanguínea na área inflamada, devido à concentração de sangue e ao aumento da temperatura pelo maior fluxo sanguíneo. O inchaço, por outro lado, é resultado do aumento da permeabilidade vascular, que causa extravasamento de líquido dos vasos sanguíneos, gerando edema. A dor é causada pelo edema que comprime as terminações nervosas e por substâncias químicas (citocinas, quimiocinas e prostaglandinas) liberadas no corpo em resposta ao dano tecidual sofrido [18].

O óxido nítrico (NO) é outro importante mediador inflamatório e chave de radicais livres em organismos vivos apresentando funções vitais nos mecanismos de regulação fisiológica e fisiopatológica nos sistemas cardiovascular, nervoso e imunológico [17]. A superprodução de NO pode ser responsável pela patologia imunológica de doenças inflamatórias e degenerativas dependentes de macrófagos, juntamente com o câncer [17]. Nos mamíferos, o NO é produzido via oxidação da L-arginina pela NO sintase (NOS); além disso, foram detectadas três isoformas

da enzima NOS: NOS endotelial, NOS neuronal e NOS induzível (iNOS). Portanto as enzimas NO e prostaglandinas são alvos terapêuticos favoráveis à descoberta de agentes anti-inflamatórios eficazes para a terapia de doenças inflamatórias [17].

2.4. Compostos ditiocarbamatos

Atualmente, a busca por novos compostos bioativos com aplicações significativas na medicina e nas indústrias farmacêuticas tem atraído consideravelmente a atenção dos químicos medicinais [9]. Considerando esse cenário, os ditiocarbamatos (DTCs) têm se mostrado excelentes candidatos a pesquisa, devido às suas extensas aplicações biológicas.

Os ditiocarbamatos são compostos que contém o grupamento $R_2NCS_2^-$, representação geral descrita na figura 2, além de serem moléculas com vasto potencial de aplicação em química de coordenação, capazes de estabilizar cátions metálicos nos mais variados estados de oxidação, formando complexos com uma grande diversidade de geometrias e propriedades [10]. Vários metais como paládio, ouro, estanho e platina foram usados para formar seus respectivos complexos para adquirir uma melhor atividade anticancerígena [9]. Esses compostos também se destacam como fungicidas, pesticidas, catalisadores em alguns processos industriais além de possuírem propriedades medicinais notáveis em potencial [10].

O átomo de enxofre presente na estrutura do ditiocarbamato possui fortes propriedades nucleofílicas e redox e, portanto, conquistou importância primordial entre os químicos medicinais [9]. Em particular, esta fração existe em produtos naturais com atividade antitumoral como a brassinina e dissulfiram (Antabuse), usado para tratar o alcoolismo crônico e que recentemente revelou sua eficácia como agente anticancerígeno, figura 4 [9].

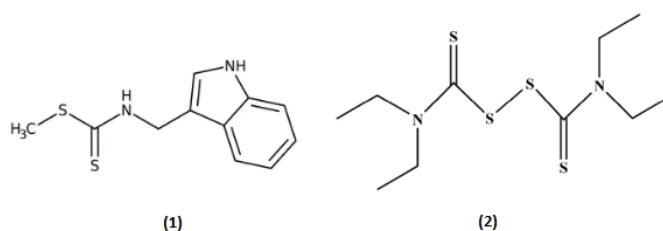


Figura 4: Representação estrutural dos compostos brassinina (1) e dissulfiram (2).

A síntese dos ditiocarbamatos geralmente ocorre em meio alcalino (NaOH ou KOH), por meio da reação entre compostos orgânicos contendo ao menos um grupo amina (R_1R_2N-H) e CS_2 [10]. Para essa síntese empregam-se solventes como etanol, metanol ou água, como exemplificado na figura abaixo [10].

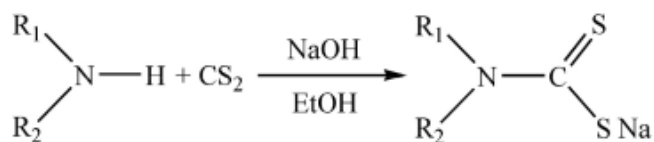


Figura 5: Representação geral da obtenção dos ditiocarbamatos.

Esses compostos são conhecidos pela comunidade científica por inibir importantes processos enzimáticos como as anidrases carbônicas, envolvidas no desenvolvimento de processos patológicos, como glaucoma e tumores malignos; a tirosinase, responsável pelo excesso de pigmentação de vários vegetais e mamíferos com a formação de melanina em excesso; urease, associada ao desenvolvimento de certos tipos de tumores malignos do trato digestivo e em processos infecciosos; entre outros [10]. Além disso, recentes avanços medicinais na síntese de derivados de ditiocarbamatos exploram suas atividades como anticancerígenos, antifúngicos, antibacterianos, anti-inflamatórias, entre outras [9].

Encontram-se na literatura diversos artigos que exploram a atividade anti-inflamatória de derivados ditiocarbamatos. Entre eles, têm-se os derivados indol-ditiocarbamatos, que demonstraram sua atividade anti-inflamatória através da inibição significativa da liberação do fator de necrose tumoral alfa e interleucina-6, um mediador de resposta inflamatória [9]. O dimetilditiocarbamato de 3-metil-1 H -indol-1-il, composto representado na figura 6, melhorou significativamente as alterações patológicas ocorridas no tecido pulmonar, diminuindo a lesão pulmonar aguda [9].

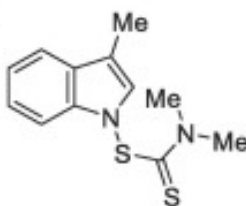


Figura 6: Representação estrutural do composto dimetilditiocarbamato de 3-metil-1 H -indol-1-il.

3. Objetivos

3.1. *Objetivos gerais*

O propósito principal desse trabalho é avaliar via *docking* molecular a possível atividade anti-inflamatória de 11 diferentes compostos ditiocarbamatos frente diferentes enzimas de resposta inflamatória.

3.2. *Objetivos específicos*

Os objetivos específicos desse trabalho são:

- Através da técnica de *docking* molecular, com o uso do software *Arguslab*, analisar a relação estrutura-atividade de onze diferentes ditiocarbamatos frente à sete enzimas de resposta inflamatória, a sintase de prostaglandina, cinco ciclooxigenases do tipo COX-2 com diferentes sítios ativos co-cristalizados (ácido araquidônico, ácido mefenâmico, fármacos diclofenaco e ibuprofeno, além de salicilato) e NO sintase. Os ditiocarbamatos avaliados são:

Dietilditiocarbamato (1)

Pirrolidinoditiocarbamato (2)

Benzil ditiocarbamato (3)

Dipropilditiocarbamato (4)

(3R) -3-fluoropirrolidinoditiocarbamato (5)

(3S) -3-fluoropirrolidinoditiocarbamato (6)

Etilmetilditiocarbamato (7)

Etilpropilditiocarbamato (8)

Dietanolditiocarbamato (9)

Metil(etanol)ditiocarbamato (10)

Etil(etanol)ditiocarbamato (11)

- Obter parâmetros farmacológicos dos ligantes que apresentaram os melhores resultados frente as enzimas com uso da plataforma *SwissADME*, como lipofilicidade, solubilidade, polaridade, toxicidade e acessibilidade sintética.

4. Materiais e Métodos

4.1. *Materiais*

Os equipamentos e softwares utilizados para a realização deste trabalho foram um computador Windows 8, com processador i3 e 4 GB de memória instalada (RAM). O software *Arguslab 4.0.1*, necessário para a realização do *docking* molecular, que está disponível gratuitamente em <http://www.arguslab.com/>. Os bancos de dados virtuais *PubChem* e PDB (*Protein data bank*) disponíveis respectivamente em <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> e

<https://www.rcsb.org/search>, além da ferramenta *SwissADME*, disponível em <http://www.swissadme.ch/>.

4.2. Métodos

4.2.1. Docking Molecular

Para alcançar os objetivos deste trabalho, foi utilizado o software *Arguslab 4.0.1* para o estudo do *docking* molecular. Este programa, foi necessário para adquirir-se a energia de interação da melhor conformação, posição e orientação do ligante, no complexo enzima-composto selecionado. Assim, com as estruturas 3D dos ligantes e das enzimas obtidas através dos bancos de dados *PubChem* e *PDB (Protein Data Bank)* respectivamente, esta técnica computacional foi utilizada para estudar as interações nos sítios ativos das enzimas selecionadas de diferentes compostos ditiocarbamatos, para enfim, obter as energias de afinidade em kcal/mol.

4.2.2. Obtenção das enzimas e ligantes selecionados

Para o presente estudo, foram selecionados onze compostos ditiocarbamatos com diferentes estruturas moleculares e seis diferentes enzimas frequentemente presentes em processos inflamatórios. Dessa forma, por intermédio do banco de dados *PubChem*, foram obtidas as estruturas 3D dos ligantes ditiocarbamatos com seus respectivos códigos: **(1)** Dietilditiocarbamato (CID8987); **(2)** Pirrolidinoditiocarbamato (CID65351); **(3)** Benzil ditiocarbamato (CID3033101); **(4)** Dipropilditiocarbamato (CID65312); **(5)** (3R)-3-fluoropirrolidinoditiocarbamato (CID86297294); **(6)** (3S)-3-fluoropirrolidinoditiocarbamato (CID86297493); **(7)** Etilmetilditiocarbamato (CID18793601); **(8)** Etilpropilditiocarbamato (CID18793593); **(9)** Dietanolditiocarbamato (CID32064); **(10)** Metil(etanol)ditiocarbamato (CID13439952); **(11)** Etil(etanol)ditiocarbamato (CID23275613).

De forma análoga, foi utilizado o banco de dados PDB para a obtenção das estruturas 3D e códigos das enzimas selecionadas, sendo estas: sintase de prostaglandinas com o fármaco inibidor flurbiprofeno co-cristalizado (1CQE); sintase de óxido nítrico contendo a molécula tetraidrobiopterina (1R35); ciclooxigenase do tipo COX-2 com o sítio ativo ácido araquidônico co-cristalizado (1CVU); ciclooxigenase do tipo COX-2 com o fármaco diclofenaco co-cristalizado(1PXX); ciclooxigenase do tipo COX-2 com o fármaco ibuprofeno co-cristalizado(4PH9); ciclooxigenase do tipo COX-2 com sítio ativo do ácido mefenâmico co-cristalizado (5IKR); ciclooxigenase do tipo COX-2 com o fármaco salicilato.

Para uma posterior análise e fator de comparação, foi adicionalmente realizado o processo conhecido como *re-docking*, que consiste em comparar a posição de um ligante co-cristalizado juntamente com a proteína com a posição de um ligante que foi colocado no sítio ativo da mesma. Dessa forma, com o auxílio do banco de dados *PubChem* foram obtidas as seguintes estruturas: ácido araquidônico (CID444899); diclofenaco (CID3033); ibuprofeno (CID3672); ácido mefenâmico (CID4044); tetrahydrobiopterina (CID135402045); flurbiprofeno (CID3394).

4.2.3. Cálculo teórico da constante de inibição, K_i

Para o cálculo das constantes de inibição da enzima, para todos os ligantes ditiocarbamatos, foi utilizada a seguinte equação:

$$K_i = e^{\left(\frac{\Delta G}{RT}\right)} \quad (\text{Equação 2})$$

Considerando ΔG como a energia de interação da melhor conformação do complexo enzima-ligante, obtida através do software *Arguslab*; R, a constante ideal dos gases ($1,98719 \text{ cal.K}^{-1}.\text{mol}^{-1}$) e T a temperatura em Kelvin (298,15 K) [21].

4.2.4. Ferramenta *SwissADME*

Após o estudo dos complexos enzima-ligantes, aqueles com os melhores resultados de potencial atividade anti-inflamatória foram avaliados mediante o emprego da ferramenta *SwissADME*. Essa plataforma online e gratuita está disponível em <http://www.swissadme.ch>. Através desta ferramenta, pode-se verificar dados farmacológicos importantes como análises das propriedades físico-químicas, lipofilicidade, farmacocinética e toxicologia.

5. Resultados e discussão

5.1. Avaliação das energias de afinidade, constantes de inibição (K_i) e do parâmetro *RMSD*

A partir da técnica de *docking* molecular com o emprego do software *Arguslab*, pôde-se avaliar a relação estrutura-atividade de onze ditiocarbamatos com diferentes estruturas frente a sete enzimas de resposta inflamatória. Essa relação pode ser avaliada mediante os valores de energia de afinidade adquiridos, parâmetro este responsável por indicar a afinidade de cada ligante pela enzima estudada. Deste modo, quanto maior a afinidade de interação entre o

composto ditiocarbamato investigado e o alvo molecular, ou seja, quanto mais estável for o complexo ditiocarbamato-enzima formado, menor será a energia obtida pelo software.

Assim como os valores da energia livre de Gibbs (energia de afinidade), os valores da constante de inibição (Ki) e do parâmetro RMSD também são importantes para a avaliação da relação entre os ligantes ditiocarbamatos e as enzimas. O parâmetro Ki indica a concentração do ligante necessária para inibir a enzima, que deve ser baixa para ser considerado um valor satisfatório e adequado para possíveis candidatos à fármacos. Já o parâmetro RMSD indica a conformação do complexo, ou seja, a deformação ou similaridade estrutural entre o ligante e a enzima, considerando a melhor conformação, ou menor deformação valores abaixo de 2Å. Os valores dos parâmetros supracitados obtidos por intermédio da relação entre os ditiocarbamatos com a enzima ciclooxigenase-2 co-cristalizada com o fármaco salicilato, em diferentes sítios ativos estão representados nos quadros 1 e 2 abaixo:

Quadro 1: Valores de energia livre de Gibbs ou energia de afinidade (kcalmol⁻¹), Ki (nmolL⁻¹ ou nM) e RMSD (Å) obtidos para o sítio ativo 601SAL da enzima ciclooxigenase-2 co-cristalizada com o fármaco salicilato.

Ligante	Energia /Kcalmol ⁻¹	Ki/nM	RMSD/ Å
Dietilditiocarbamato (1)	-6,34521	0,989347	1,88
Pirrolidinoditiocarbamato (2)	-6,12474	0,989715	1,96
Benzilditiocarbamato (3)	-10,2732	0,982810	0,57
Dipropilditiocarbamato (4)	-7,32731	0,987708	1,56
(3R) -3-fluoropirrolidinoditiocarbamato (5)	-6,31521	0,989397	1,89
(3S) -3-fluoropirrolidinoditiocarbamato (6)	-6,18657	0,989612	1,94
Etilmetilditiocarbamato (7)	-5,58972	0,990609	2,14
Etilpropilditiocarbamato (8)	-6,90799	0,988408	1,70
Dietanolditiocarbamato (9)	-5,96616	0,989980	2,01
Etanol(metil)ditiocarbamato (10)	-5,26803	0,991147	2,24
Etil(etanol)ditiocarbamato (11)	-6,16811	0,989643	1,94
Ácido acetilsalicílico	-9,12953	0,984709	0,96

Fonte: Autoria própria

Quadro 2: Valores de energia livre de Gibbs ou energia de afinidade (kcalmol⁻¹), Ki (nmolL⁻¹ ou nM) e RMSD (Å) obtidos para o sítio ativo 1139SAL da enzima ciclooxigenase-2 co-cristalizada com o fármaco Salicilato.

Ligante	Energia /Kcalmol ⁻¹	Ki/nM	RMSD/ Å
Dietilditiocarbamato (1)	-6,11879	0,989725	1,96
Pirrolidinoditiocarbamato (2)	-6,16369	0,989665	1,94
Benzilditiocarbamato (3)	-10,2689	0,982817	0,58
Dipropilditiocarbamato (4)	-7,43437	0,987530	1,52

(3R)-3-fluoropirrolidinoditiocarbamato (5)	-6,17086	0,989638	1,94
(3S)-3-fluoropirrolidinoditiocarbamato (6)	-6,35813	0,989325	1,88
Etilmetilditiocarbamato (7)	-5,69225	0,990438	2,10
Etilpropilditiocarbamato (8)	-6,74094	0,988687	1,75
Dietanolditiocarbamato (9)	-6,22097	0,989555	1,93
Etanol(metil)ditiocarbamato (10)	-5,17380	0,991305	2,27
Etil(etanol)ditiocarbamato (11)	-6,24890	0,989508	1,92
Ácido acetilsalicílico	-8,91942	0,985058	1,03

Fonte: Autoria própria

Os resultados obtidos dispostos nos quadros acima são semelhantes aqueles adquiridos para as demais enzimas estudadas, ou seja, a sintase de prostaglandina, quatro ciclooxygenases do tipo COX-2 com diferentes sítios ativos co-cristalizados (ácido araquidônico, ácido mefenâmico, fármacos diclofenaco e ibuprofeno) e NO sintase. Dessa forma, as tabelas que retratam as energias, Ki e RMSD dos demais complexos, estão dispostas nos anexos deste trabalho.

Considerando todos os resultados obtidos, pôde-se observar um destaque para os compostos **3** e **4**, derivados contendo os grupamentos orgânicos benzílico e propílico, com valores satisfatórios de energia de ligação, de Ki e do parâmetro RMSD frente a todas as enzimas e expressivamente menores que $-6,00 \text{ Kcalmol}^{-1}$, demonstrando grande afinidade com as respectivas enzimas e conseqüentemente uma elevada atividade inibitória. Os resultados em resumo obtidos para os derivados **3** e **4** estão dispostos nos quadros 3 e 4 abaixo, assim como os valores de energia de afinidade das enzimas com seus próprios sítios ativos (re-docking).

Quadro 3: Valores de energia livre de Gibbs ou energia de afinidade (kcalmol^{-1}), Ki (nmolL^{-1} ou nM) e RMSD (Å) obtidos para o derivado benzilditiocarbamato, composto **3**, frente a diferentes enzimas e os valores de re-docking das mesmas.

Enzima	Energia / Kcalmol^{-1}	Ki/nM	RMSD/ Å	re - docking
Sintase de prostaglandina (1650FLP)	-10,2169	0,982904	0,590	-12,3648
Sintase de prostaglandina (2650FLP)	-10,9303	0,981721	0,360	-12,6782
NO sintase (902H4B)	-7,96156	0,986652	1,35	-6,70953
NO sintase (1902H4B)	-8,00105	0,986586	1,33	-6,26778
Ciclooxygenase-2 com ác. araquidônio (701(ACD))	-10,4418	0,982531	0,520	-15,1054
Ciclooxygenase-2 com ác. araquidônico (2701ACD)	-10,0517	0,983178	0,650	-15,1081
Ciclooxygenase-2 com diclofenaco (701DIF)	-10,5093	0,982419	0,500	-11,6168

Ciclooxigenase-2 com diclofenaco (1701DIF)	-10,6439	0,982195	0,450	-10,5372
Ciclooxigenase-2 com diclofenaco (2701DIF)	-10,2364	0,982871	0,590	-11,4461
Ciclooxigenase-2 com diclofenaco (3701DIF)	-10,6106	0,982251	0,460	-11,2011
Ciclooxigenase-2 com ibuprofeno (601IBP)	-9,86349	0,983490	0,710	-12,3670
Ciclooxigenase-2 com ibuprofeno (1139IBP)	-10,4198	0,982567	0,53	-11,0978
Ciclooxigenase-2 com ác. mefenâmico (601ID8)	-10,5826	0,982297	0,47	-10,9074
Ciclooxigenase-2 com ác. mefenâmico (1138ID8)	-10,3664	0,982656	0,54	-11,196

Fonte: Autoria própria

Quadro 4: Valores de energia livre de Gibbs ou energia de afinidade (kcal mol^{-1}), K_i (nmol L^{-1} ou nM) e RMSD (Å) obtidos para o derivado dipropilditiocarbamato, composto **4**, frente a diferentes enzimas e, os valores de re-docking das mesmas.

Enzimas	Energia (Kcal/mol)	Ki	RMSD	re-docking
Sintase de prostaglandina (1650FLP)	-6,87902	0,988457	1,71	-12,3648
Sintase de prostaglandina (2650FLP)	-7,19941	0,987922	1,60	-12,6782
NO sintase (902H4B)	-5,42768	0,990881	2,19	-6,70953
No sintase (1902H4B)	-6,49284	0,989101	1,83	-6,26778
Ciclooxigenase-2 com ác. araquidônico (701ACD)	-7,21695	0,987893	1,59	-15,1054
Ciclooxigenase-2 com ác. araquidônico (2701ACD)	-7,21819	0,987891	1,59	-15,1081
Ciclooxigenase-2 com diclofenaco (701DIF)	-7,61268	0,987233	1,46	-11,6168
Ciclooxigenase-2 com diclofenaco (1701DIF)	-7,31261	0,987733	1,56	-10,5372
Ciclooxigenase-2 com diclofenaco (2701DIF)	-7,65458	0,987164	1,45	-11,4461
Ciclooxigenase-2 com diclofenaco (3701DIF)	-7,25242	0,987834	1,58	-11,2011
Ciclooxigenase-2 com ibuprofeno (601IBP)	-6,98419	0,988281	1,67	-12,3670
Ciclooxigenase-2 com ibuprofeno (1139IBP)	-7,06199	0,988151	1,65	-11,0978
Ciclooxigenase-2 com ác. mefenâmico (601ID8)	-7,79314	0,986933	1,40	-10,9074
Ciclooxigenase-2 com ác. mefenâmico (1138ID8)	-7,12764	0,988042	1,62	-11,1960

Fonte: Autoria própria

É possível verificar que entre todos os compostos analisados, o benzilditiocarbamato (composto **3**) foi o que apresentou os melhores resultados. Os complexos formados entre este composto e as respectivas enzimas, exibiram valores de RMSD abaixo de 2Å em todas as análises demonstrando que o composto **3** não sofreu grandes deformações estruturais ao interagir com as macromoléculas. Os dados presentes nos quadros 3 e 4, também mostraram os mais baixos valores de energias de ligação e de constantes de inibição, afirmando sua afinidade com as enzimas, assim como sua atividade inibitória.

O composto **4** (dipropilditiocarbamato) também apresentou baixos valores de energia de afinidade se destacando frente aos outros nove ditiocarbamatos estudados. Porém, pode-se observar que diferentemente das demais enzimas, as energias obtidas para a NO sintase (902H4B) não foram baixas o suficiente, acarretando em um RMSD acima de 2Å e, portanto, se mostrando um ineficiente inibidor desta enzima.

Como esperado, os valores obtidos através do re-docking foram baixos, confirmando a ação inibitória dos fármacos co-cristalizados já existentes. Em relação ao derivado **3**, nota-se a presença de valores comparáveis ou similares de energia ao processo de re-docking para algumas enzimas como a NO sintase (1902H4B) e duas ciclooxygenases com diclofenaco e ácido mefenâmico como fármacos co-cristalizados. Isso sugere e ressalta uma maior possível atividade anti-inflamatória para o composto **3**.

A figura 10 mostra a representação das estruturas químicas dos ditiocarbamatos investigados. Ao observarmos as representações estruturais dos ditiocarbamatos pode-se verificar que os compostos **1**, **4**, **7** e **8** são semelhantes, se distinguindo apenas pelo número de átomos de carbono presentes e grau de simetria, ou seja, com dois grupamentos orgânicos iguais ou diferentes. Desta forma, nota-se a presença de uma quantidade provavelmente maior de interações hidrofóbicas no complexo formado pelo composto **4**, devido à parte apolar maior em sua estrutura, sugerindo que quanto maior o tamanho da cadeia carbônica, maior o número de interações hidrofóbicas, contribuindo assim para uma maior atividade deste composto.

Este fato também está evidenciado no trabalho publicado, “Derivados de ditiocarbamato mais eficazes na inibição de anidrases carbônicas, gerados por QSAR e design computacional” dos autores Speranta Avram e colaboradores, que relaciona as estruturas químicas de ditiocarbamatos com ação inibitória para anidrases carbônicas [22]. Neste artigo os autores afirmam que a inibição das enzimas em questão está correlacionada com a quantidade de átomos hidrofóbicos presentes nos ligantes ditiocarbamatos, ou seja, a atividade depende do tamanho da cadeia carbônica [22].

Os compostos **5** e **6** apresentaram valores de energia parecidos e pouco satisfatórios para todas as enzimas, o que pode ser explicado pela semelhança entre os dois que são isômeros com a presença de flúor. Os derivados **9**, **10** e **11** tampouco se destacaram, algumas vezes apresentando valores de energia mais elevados do que o esperado com um valor de RMSD maior que 2Å quando ligados às enzimas. Os derivados em questão apresentam em comum um grupo etanol em sua constituição, -CH₂CH₂OH. Estes fatos podem sugerir que a presença de átomos eletronegativos como O e F não contribuem para uma atividade biológica expressiva e que a ação anti-inflamatória possa estar de fato associada a interações hidrofóbicas mais pronunciadas dos compostos com resíduos de aminoácidos das enzimas. Essa hipótese pode ser corroborada pelos compostos que se mostraram mais ativos, derivados benzílicos e dipropílico **3** e **4**, os quais apresentam uma parte orgânica e apolar bastante pronunciada.

O composto **3** (figura 7) se mostrou o mais promissor dentre todos os derivados ditiocarbamatos avaliados com os menores valores da energia livre de Gibbs e se difere dos demais pela presença de um anel benzílico em sua estrutura, além da posição de seu grupo orgânico e apolar, ligado ao átomo de enxofre, diferente dos demais ditiocarbamatos.

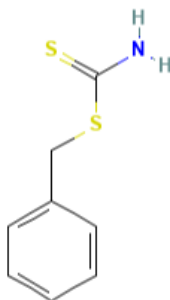


Figura 7: Representação do composto benzilditiocarbamato. Fonte: Pubchem.

As estruturas da enzima ciclooxigenase-2 co-cristalizada com o fármaco aspirina estão representadas nas figuras 8 e 9 com o sítio ativo SAL destacado em verde.

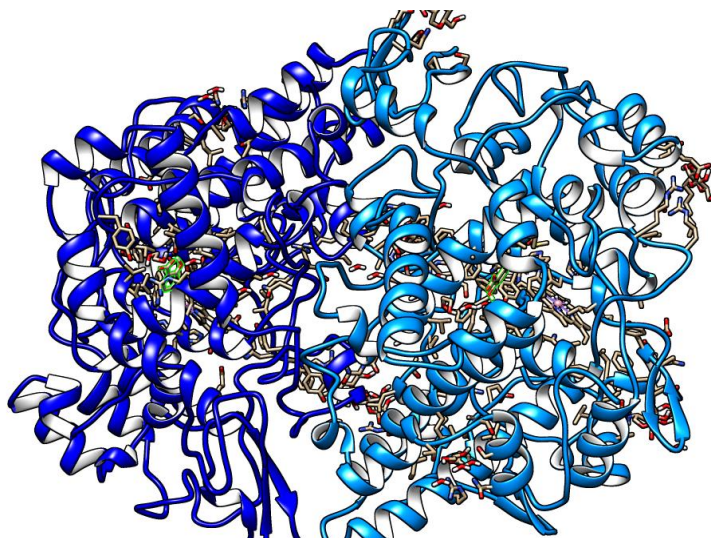


Figura 8: Representação do complexo Aspirina-enzima COX-2 contendo vários sítios ativos.

Fonte: Chimera 1.16. Disponível em: <https://www.cgl.ucsf.edu/chimera/download.html>.

É possível visualizar na figura 8 a presença de vários sítios ativos co-cristalizados junto à referida enzima, ou seja, a presença de muitas moléculas de aspirina. Neste estudo todos os sítios foram avaliados e os melhores resultados selecionados para o sítio mostrado em destaque na figura 9.

Nota-se na figura 9 que o fármaco co-cristalizado forma interações de Van der Waals com determinados resíduos de aminoácidos presentes na enzima: fenilalanina (PHE 933), leucina (LEU 904), glicina (GLY 1078), serina (SER 530), glicina (GLY 526) e valina (VAL 434). Ao analisarmos e compararmos as estruturas do derivado ditiocarbamato mais ativo (benzilditiocarbamato) com o fármaco aspirina é plausível afirmar que as interações intermoleculares realizadas através do anel aromático presente talvez ocorram de maneira mais pronunciada contribuindo para a elevada atividade anti-inflamatória deste composto.

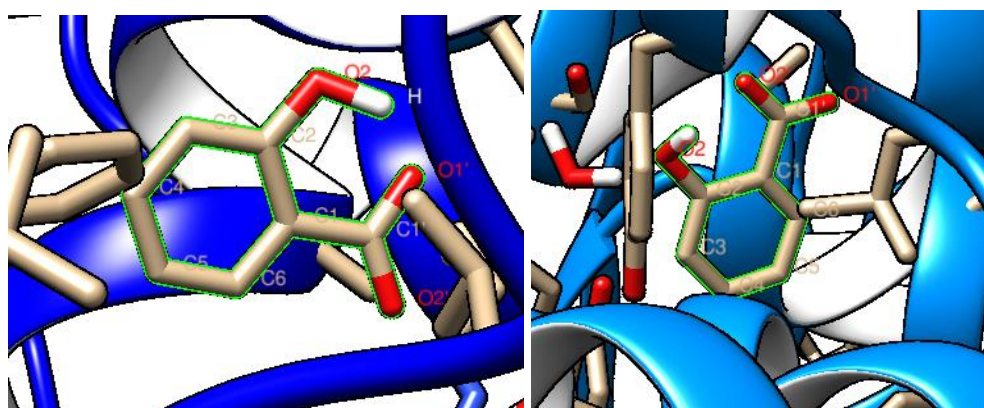


Figura 9: Representação dos sítios ativos SAL da enzima ciclooxygenase-2 co-cristalizada com o fármaco aspirina.

Fonte: Chimera 1.16. Disponível em: <https://www.cgl.ucsf.edu/chimera/download.html>.

<p>(1) Dietilditiocarbamato $C_5H_{11}NS_2$</p>	<p>(2) Pirrolidinoditiocarbamato $C_5H_9NS_2$</p>	<p>(3) Benzilditiocarbamato $C_8H_9NS_2$</p>
<p>(4) Dipropilditiocarbamato $C_7H_{15}NS_2$</p>	<p>(5) (3R) -3- fluoropirrolidinoditiocarb amato $C_5H_8FNS_2$</p>	<p>(6) (3S) -3- fluoropirrolidinoditiocarb amato $C_5H_8FNS_2$</p>

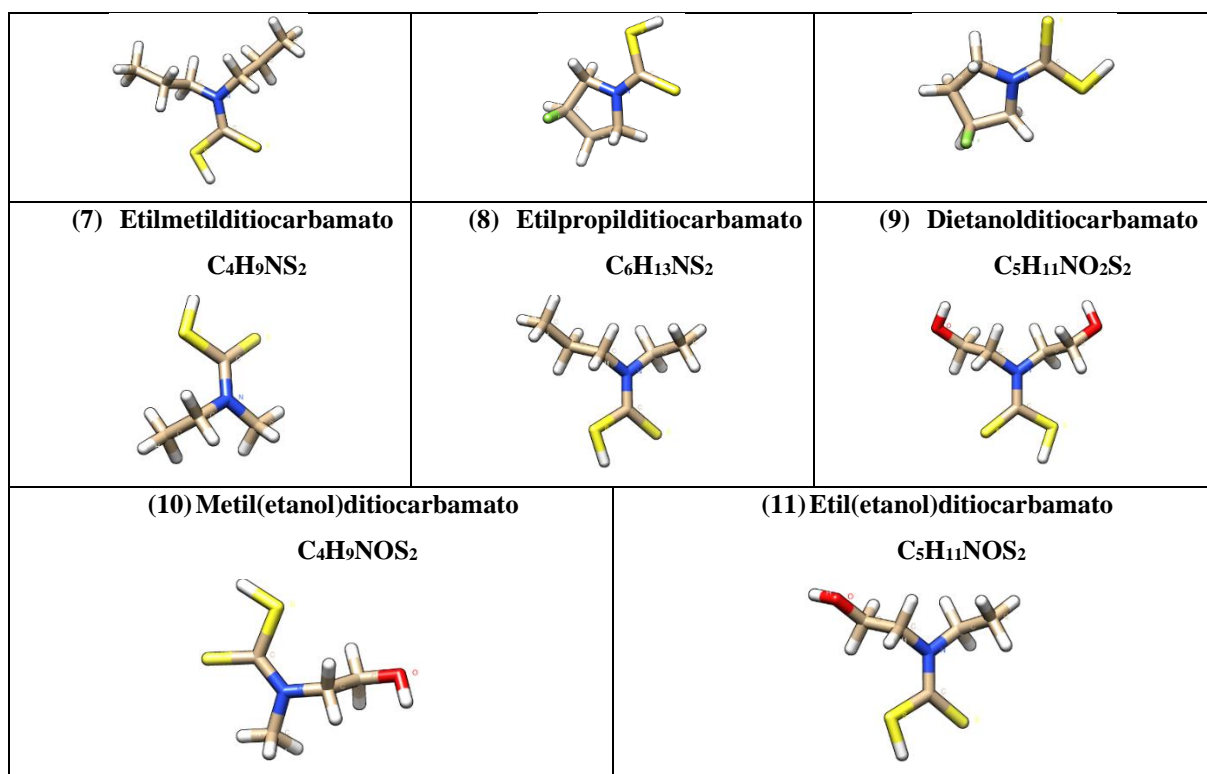


Figura 10: Representação das estruturas dos ditiocarbamatos. Fonte: Adaptado do *PubChem*.

Representado em amarelo o átomo de enxofre, S; em vermelho o átomo de oxigênio, O; em verde o átomo de flúor; em azul o átomo de nitrogênio, N; em cinza o carbono, C e em branco o hidrogênio, H.

5.2. Avaliação da atividade toxicológica e farmacocinética

Os ditiocarbamatos que apresentaram melhores resultados na análise de *docking* molecular foram submetidos a um estudo toxicológico através da ferramenta *SwissADME*. Essa ferramenta analisa as propriedades físico-químicas, além da lipofilicidade, solubilidade em água e propriedades farmacocinéticas do composto analisado [23]. O quadro 5 abaixo mostra os resultados obtidos a partir da análise feita para o composto 3:

Quadro 5: Avaliação do composto 3 benzilditiocarbamato pela ferramenta *SwissADME*.

Fórmula	$C_8H_9NS_2$	Absorção gastrointestinal	Alta
Peso molecular (g/mol)	183,29	Inibidor de CYP1A2	Sim
Nº de átomos pesados	11	Inibidor de CYP2C19	Não
Insaturação	0,12	Inibidor de CYP2C9	Não
Número ligações rotativas	3	Inibidor de CYP2D6	Não
Doadores de ligação H	1	Inibidor de CYP3A4	Não
Refratividade Molar	54,30	Log K_p (permeação da pele)	-5,87 cm/s
Área de superfície polar	83,41 Å ²	Violação de Lipinski	0
Lipofilicidade	2,18	Brenk	1
Solubilidade em água	Solúvel	Acessibilidade sintética	1,92

Fonte: Autoria própria

Para considerarmos o composto um possível candidato a fármaco, este deve apresentar propriedades físico-químicas adequadas para a biodisponibilidade oral tais como peso molecular, lipofilicidade, polaridade, insaturação, solubilidade e flexibilidade[23]. O peso molecular deve estar entre 150 e 500 g/mol. A lipofilicidade entre -0,7 e 5, parâmetro avaliado pelo coeficiente de partição entre n-octanol e água ($\log P_{o/w}$), que indica a capacidade do composto ser absorvido por sistemas biológicos. A área de superfície polar, que indica a polaridade, deve estar entre 20 e 130. Deve ser solúvel em água e apresentar insaturação entre 0,25 e 1, assim como uma flexibilidade, medida pelo número de ligações rotativas entre 1 e 9 [23].

Desta forma, na plataforma utilizada configura-se uma imagem onde a zona colorida é o espaço físico-químico adequado para essa biodisponibilidade oral, conforme a figura 11. Nesta figura é mostrado o radar de biodisponibilidade do composto considerando os resultados de suas propriedades físico-químicas apresentadas no quadro 5. Sendo assim, pode-se verificar que sua biodisponibilidade oral está comprometida apenas devido a seu baixo valor de insaturações que deveria estar entre 0,25 e 1.

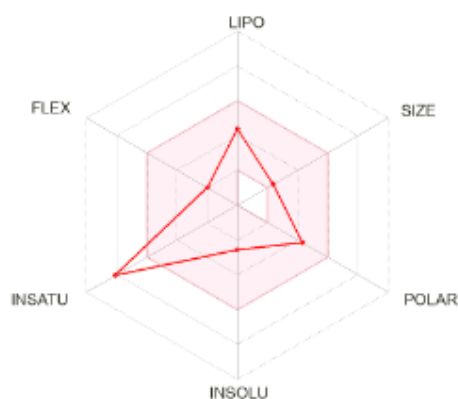


Figura 11: Radar de biodisponibilidade do composto benzilditiocarbamato (3). Fonte: SwissADME.

A absorção gastrointestinal é um parâmetro importante para prever se os compostos podem ser absorvidos pelo intestino delgado humano, sendo normalmente o intestino o primeiro local para a absorção de um fármaco a partir de uma solução administrada oralmente [24].

O conhecimento sobre as interações entre o composto e as enzimas citocromos, identificadas no quadro como CYP, são essenciais, já que essa família de enzimas é de extrema importância na eliminação de fármacos por meio da biotransformação metabólica [23]. Estas enzimas da classe dos citocromos participam do processo de respiração celular dos mamíferos,

sendo vitais a esse processo, portanto é importante que os candidatos a fármacos não inibam essas enzimas [23]. A acessibilidade sintética analisa a dificuldade ou facilidade com a qual a síntese do composto candidato à fármaco ocorre, variando entre 1 e 10, sendo complexos fáceis de sintetizar indicados por 1 e difíceis por 10 [23].

Um dos parâmetros mais populares para a avaliação da biodisponibilidade oral de um fármaco é a regra de Lipinski, que prediz se a absorção oral está relacionada com as propriedades físico-químicas [25]. Sendo elas peso molecular inferior a 500 g/mol, coeficiente de partição calculado menor que 5, grupos doadores de ligação hidrogênio menor ou igual a 5 e grupos aceptores de ligação de hidrogênio menores ou iguais a 10 [25]. Dessa forma, pode-se observar que o composto **3** não violou essa regra. Finalmente, a ferramenta também identificou um fragmento supostamente tóxico, quimicamente reativo, metabolicamente instável ou com propriedades responsáveis por uma farmacocinética deficiente, um “brenk”, tiocarbonil.

A ferramenta *SwissADME* também foi utilizada para verificar as propriedades toxicológicas e farmacocinéticas do composto **4**, dipropilditiocarbamato, resultando nos valores dispostos no quadro 6 e na figura 12.

Quadro 6: Avaliação do complexo **4** dipropilditiocarbamato pela ferramenta *SwissADME*.

Fórmula	C ₇ H ₁₅ NS ₂	Absorção gastrointestinal	Alta
Peso molecular (g/mol)	177,33	Inibidor de CYP1A2	Não
Nº. átomos pesados	10	Inibidor de CYP2C19	Não
Insaturação	0,86	Inibidor de CYP2C9	Não
Num. ligações rotativas	5	Inibidor de CYP2D6	Não
Doadores de ligação H	0	Inibidor de CYP3A4	Não
Refratividade Molar	54,38	Log K_p (permeação da pele)	-5,47 cm/s
Área de superfície polar	74,13 Å ²	Violação de Lipinski	0
Lipofilicidade	2,69	Brenk	2
Solubilidade em água	Solúvel	Acessibilidade sintética	1,95

Fonte: Autoria própria

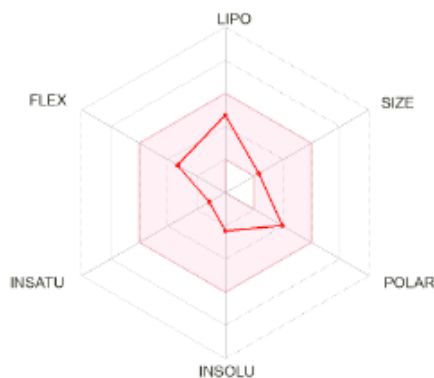


Figura 12: Radar de biodisponibilidade do Dipropilditiocarbamato. Fonte: SwissADME.

Sendo assim, através dessa plataforma obtêm-se uma imagem, em forma de radar, onde a zona colorida é o espaço físico-químico adequado para essa biodisponibilidade oral. Na figura 12 está representado o radar de biodisponibilidade considerando os resultados de suas propriedades físico químicas apresentadas no quadro 6 para o derivado dipropilditiocarbamato. Sendo assim, pode-se verificar que esse composto é adequado e traz um bom percentual de aproveitamento pelo organismo.

Verifica-se que diferentemente da análise realizada para o composto **3**, este não inibiu qualquer enzima CYP, com suas propriedades físico-químicas apresentando valores satisfatórios e adequados a ter uma boa biodisponibilidade oral. Ele tampouco violou a regra de Lipinski, porém apresentou 2 alertas de “brenk”, com os fragmentos tiocarbonil e tiol.

6. Conclusão

Pode-se concluir a partir do estudo teórico dos compostos ditiocarbamatos realizado neste trabalho que esses derivados apresentam qualidades necessárias para serem bons candidatos a fármacos anti-inflamatórios. A atividade biológica destes ligantes foi analisada com o emprego da técnica de *docking* molecular sob uma perspectiva computacional para obtenção das energias de afinidade dos complexos ditiocarbamatos-enzimas. A maioria dos compostos analisados apresentou valores negativos e menores que $-6,00 \text{ Kcalmol}^{-1}$ atestando a afinidade considerável entre os ligantes e as respectivas enzimas avaliadas, que está diretamente relacionada com a atividade inibitória desses compostos.

Adicionalmente os valores obtidos para os parâmetros de constante de inibição (K_i) e RMSD se mostraram satisfatórios com um destaque para os compostos benzil e dipropilditiocarbamatos entre os onze ligantes estudados. Estes ditiocarbamatos apresentaram baixos valores de energia, K_i e RMSD, para quase todas as enzimas, confirmando sua atividade inibitória frente às enzimas estudadas. É plausível afirmar que a atuação de interações hidrofóbicas do tipo Van der Waals entre as enzimas e os ligantes sejam importantes para formação dos complexos.

Finalmente, através da avaliação desses compostos pela ferramenta *SwissADME*, suas propriedades toxicológicas e farmacocinéticas revelaram que apesar do benzilditiocarbamato apresentar menores energias de ligação e uma atividade inibitória adequada para todas as sete enzimas estudadas, este não apresenta uma biodisponibilidade oral satisfatória quando comparado ao dipropilditiocarbamato. Já que este último, além de apresentar energias adequadas para grande parte das enzimas trabalhadas, com exceção da NO sintase de sítio ativo 902H4B, obteve uma boa resposta quanto a sua biodisponibilidade oral. Porém de forma geral,

estes compostos se mostraram possíveis futuros agentes terapêuticos, com qualidades capazes de torná-los fármacos anti-inflamatórios. É importante ressaltar que o trabalho apresentado se restringe a uma análise somente computacional e que posteriores análises *in vitro* e *in vivo* são essenciais e necessárias para os compostos avaliados.

7. Referências

- [1] L.M. Lima, Modern medicinal chemistry: Challenges and brazilian contribution, *Quim Nova*. 30 (2007) 1456–1468.
- [2] E.J. Barreiro, C.R. Rodrigues, M.G. Albuquerque, C.M.R. deSantAnna, R.B. deAlencastro, Molecular modeling: A tool for rational drug design in medicinal chemistry, *Quim Nova*. 20 (1997) 300–310.
- [3] E. Piccirillo, A.T. do Amaral, Virtual screening of bioactive compounds: concepts and applications, (2018).
- [4] N.G. Bernardino, M.P. Silva, L.S. Momesso, Fármacos anti-inflamatórios: Aspectos Gerais, (2016) 1–8.
- [5] H. Levesque, O. Lafont, Aspirin throughout the ages: an historical review., *Revue de medecine interne*. 21 (2000) 8S-17S. [https://doi.org/10.1016/S0248-8663\(00\)88720-2](https://doi.org/10.1016/S0248-8663(00)88720-2).
- [6] B. Kaur, P. Singh, Inflammation: Biochemistry, cellular targets, anti-inflammatory agents and challenges with special emphasis on cyclooxygenase-2, *Bioorg Chem*. 121 (2022). <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2022.105663>.
- [7] S. Kazemi, H. Shirzad, M. Rafieian-Kopaei, Recent Findings in Molecular Basis of Inflammation and Anti-inflammatory Plants, *Curr Pharm Des*. 24 (2018) 1551–1562. <https://doi.org/10.2174/1381612824666180403122003>.
- [8] A. Ferreira Mendes, M. Teresa Cruz, O. Gualillo, Editorial: The Physiology of Inflammation-The Final Common Pathway to Disease, *Front Physiol*. 9 (2018). <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.01741>.
- [9] S.D. Shinde, A.P. Sakla, N. Shankaraiah, An insight into medicinal attributes of dithiocarbamates: Bird's eye view, *Bioorg Chem*. 105 (2020). <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2020.104346>.
- [10] D.C. Menezes, G.M. de Lima, General aspects of the chemistry of dithiocarbamates, their metallic complexes and their interactions with importante enzymes - A brief revision, *Quim Nova*. 44 (2021) 1012–1019. <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170755>.
- [11] L.G. Ferreira, R.N. dos Santos, G. Oliva, A.D. Andricopulo, Molecular Docking and Structure-Based Drug Design Strategies, *MOLECULES*. 20 (2015) 13384–13421. <https://doi.org/10.3390/molecules200713384>.
- [12] A.F. Macarini, Design, síntese e atividade in sílico e in vitro de heterociclos pirazólicos como inibidores da COX-2, Universidade do Vale do Itajaí, 2019.
- [13] C.B. Alejandro, Evaluación in silico de nuevas fluoroquinolonas como posibles inhibidoras de girasas bacterianas en patógenos Gram-negativos resistentes, Universidad Centra del Ecuador, 2021.

- [14] C. Davila, L. Llach, G. Salgado-Moran, R. Ramirez-Tagle, Docking studies on novel analogs of quinolones against DNA gyrase of *Escherichia coli*, *J Pharm Pharmacogn Res.* 6 (2018) 386–391.
- [15] E.A. Coutias, M.J. Wester, RMSD and Symmetry, *J Comput Chem.* 40 (2019) 1496–1508. <https://doi.org/10.1002/jcc.25802>.
- [16] R. Meli, P.C. Biggin, spyrmsd: symmetry-corrected RMSD calculations in Python, *J Cheminform.* 12 (2020). <https://doi.org/10.1186/s13321-020-00455-2>.
- [17] T.S. Ibrahim, A.H. Moustafa, A.J. Almalki, R.M. Allam, A. Althagafi, S. Md, M.F.A. Mohamed, Novel chalcone/aryl carboximidamide hybrids as potent anti-inflammatory via inhibition of prostaglandin E2 and inducible NO synthase activities: design, synthesis, molecular docking studies and ADMET prediction, *J Enzyme Inhib Med Chem.* 36 (2021) 1067–1078. <https://doi.org/10.1080/14756366.2021.1929201>.
- [18] R. Etienne, F.P. Dias Viegas, C. Viegas Jr, Pathophysiological Aspects of Inflammation and Drug Design: an Updated Overview, *Revista virtual de quimica.* 13 (2021) 167–191. <https://doi.org/10.21577/1984-6835.20200138>.
- [19] P. Prasher, H. Mudila, M. Sharma, B. Khati, Developmental perspectives of the drugs targeting enzyme-instigated inflammation: a mini review, *Medicinal chemistry research.* 28 (2019) 417–449. <https://doi.org/10.1007/s00044-019-02315-7>.
- [20] L.J. Marnett, Cyclooxygenase mechanisms, *Curr Opin Chem Biol.* 4 (2000) 545–552. [https://doi.org/10.1016/S1367-5931\(00\)00130-7](https://doi.org/10.1016/S1367-5931(00)00130-7).
- [21] G.M. Marion, Modelagem computacional da NTPDase5 de *Homo sapiens* e estudos de docking de chalconas e auronas, Universidade Federal de Juiz de Fora, 2018.
- [22] S. Avram, A.L. Milac, F. Carta, C.T. Supuran, More effective dithiocarbamate derivatives inhibiting carbonic anhydrases, generated by QSAR and computational design, *J Enzyme Inhib Med Chem.* 28 (2013) 350–359. <https://doi.org/10.3109/14756366.2012.727410>.
- [23] A. Daina, O. Michielin, V. Zoete, SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules, *Sci Rep.* 7 (2017). <https://doi.org/10.1038/srep42717>.
- [24] D.E. v Pires, T.L. Blundell, D.B. Ascher, pkCSM: Predicting Small-Molecule Pharmacokinetic and Toxicity Properties Using Graph-Based Signatures, *J Med Chem.* 58 (2015) 4066–4072. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b00104>.
- [25] P. Brandao, C. Marques, A.J. Burke, M. Pineiro, The application of isatin-based multicomponent-reactions in the quest for new bioactive and druglike molecules, *Eur J Med Chem.* 211 (2021). <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.113102>.

8. Anexos

Quadro A: Valores de energia livre de Gibbs ou energia de afinidade (kcalmol^{-1}), K_i (nmolL^{-1} ou nM) e RMSD (\AA) obtidos para o sítio ativo 1650FLP da enzima sintase de prostaglandinas co-cristalizada com o fármaco flurbiprofen.

Ligante	Energia /Kcalmol^{-1}	K_i/nM	RMSD/ \AA
Dietilditiocarbamato (1)	-6,30688	0,989412	1,90
Pirrolidinoditiocarbamato (2)	-6,34493	0,989348	1,88
Benzilditiocarbamato (3)	-10,2169	0,982903	0,59
Dipropilditiocarbamato (4)	-6,87902	0,988456	1,71
(3R) -3-fluoropirrolidinoditiocarbamato (5)	-6,47031	0,989139	1,84
(3S) -3-fluoropirrolidinoditiocarbamato (6)	-6,34720	0,989344	1,88
Etilmetilditiocarbamato (7)	-5,54246	0,990689	2,15
Etilpropilditiocarbamato (8)	-6,56294	0,988984	1,81
Dietanolditiocarbamato (9)	-6,24237	0,989519	1,92

Metil(etanol)ditiocarbamato (10)	-5,48873	0,990779	2,17
Etil(etanol)ditiocarbamato (11)	-6,31554	0,989397	1,89
Flurbiprofeno	-12,3648	0,979347	0,12

Fonte: Autoria própria

Quadro B: Valores de energia livre de Gibbs ou energia de afinidade (kcalmol^{-1}), K_i (nmolL^{-1} ou nM) e RMSD (Å) obtidos para o sítio ativo 2650FLP da enzima sintase de prostaglandinas co-cristalizada com o fármaco flurbiprofen.

Ligante	Energia / Kcalmol^{-1}	K_i/nM	RMSD/ Å
Dietilditiocarbamato (1)	-6,18126	0,989621	1,94
Pirrolidinoditiocarbamato (2)	-6,33133	0,989371	1,89
Benzilditiocarbamato (3)	-10,9303	0,981721	0,36
Dipropilditiocarbamato (4)	-7,19941	0,987922	1,60
(3R)-3-fluoropirrolidinoditiocarbamato (5)	-6,39928	0,989257	1,87
(3S)-3-fluoropirrolidinoditiocarbamato (6)	-6,25011	0,989506	1,92
Etilmetilditiocarbamato (7)	-5,70537	0,990417	2,10
Etilpropilditiocarbamato (8)	-6,61395	0,988899	1,79
Dietanolditiocarbamato (9)	-6,76648	0,988644	1,74
Metil(etanol)ditiocarbamato (10)	-5,67452	0,990468	2,11
Etil(etanol)ditiocarbamato (11)	-6,35659	0,989329	1,88
Flurbiprofeno	-12,6782	0,978829	0,23

Fonte: Autoria própria

Quadro C: Valores de energia livre de Gibbs ou energia de afinidade (kcalmol^{-1}), K_i (nmolL^{-1} ou nM) e RMSD (Å) obtidos para o sítio ativo 902H4B da enzima óxido nítrico sintase.

Ligante	Energia / Kcalmol^{-1}	K_i/nM	RMSD/ Å
Dietilditiocarbamato (1)	-5,41647	0,990899	2,19
Pirrolidinoditiocarbamato (2)	-5,38700	0,990949	2,21
Benzilditiocarbamato (3)	-7,96156	0,986652	1,35
Dipropilditiocarbamato (4)	-5,42768	0,990881	2,19
(3R)-3-fluoropirrolidinoditiocarbamato (5)	-5,40194	0,990924	2,20
(3S)-3-fluoropirrolidinoditiocarbamato (6)	-5,88597	0,990115	2,04
Etilmetilditiocarbamato (7)	-5,29884	0,991096	2,23
Etilpropilditiocarbamato (8)	-5,67878	0,990461	2,11
Dietanolditiocarbamato (9)	-5,90839	0,990077	2,03

Metil(etanol)ditiocarbamato (10)	-5,54587	0,990683	2,15
Etil(etanol)ditiocarbamato (11)	-5,67061	0,990475	2,11
Tetrahydrobiopterina	-6,70953	0,988739	1,76

Fonte: Autoria própria

Quadro D: Valores de energia livre de Gibbs ou energia de afinidade (kcalmol^{-1}), K_i (nmolL^{-1} ou nM) e RMSD (Å) obtidos para o sítio ativo 1902H4B da enzima óxido nítrico sintase.

Ligante	Energia / Kcalmol^{-1}	K_i/nM	RMSD/ Å
Dietilditiocarbamato (1)	-5,64260	0,990521	2,12
Pirrolidinoditiocarbamato (2)	-5,80109	0,990257	2,07
Benzilditiocarbamato (3)	-8,00105	0,986586	1,33
Dipropilditiocarbamato (4)	-6,49284	0,989101	1,83
(3R)-3-fluoropirrolidinoditiocarbamato (5)	-5,81198	0,990238	2,06
(3S)-3-fluoropirrolidinoditiocarbamato (6)	-5,74374	0,990352	2,08
Etilmetilditiocarbamato (7)	-5,35164	0,991008	2,22
Etilpropilditiocarbamato (8)	-6,00123	0,989922	1,99
Dietanolditiocarbamato (9)	-6,02540	0,989882	1,99
Metil(etanol)ditiocarbamato (10)	-5,35332	0,991005	2,21
Etil(etanol)ditiocarbamato (11)	-5,83360	0,990202	2,05
Tetrahydrobiopterina	-6,26778	0,989477	1,91

Fonte: Autoria própria

Quadro E: Valores de energia livre de Gibbs ou energia de afinidade (kcalmol^{-1}), K_i (nmolL^{-1} ou nM) e RMSD (Å) obtidos para o sítio ativo 701ACD da enzima ciclooxygenase-2 co-cristalizada com o ácido araquidônico.

Ligante	Energia / Kcalmol^{-1}	K_i/nM	RMSD/ Å
Dietilditiocarbamato (1)	-6,25013	0,989506	1,92
Pirrolidinoditiocarbamato (2)	-6,12603	0,989714	1,96
Benzilditiocarbamato (3)	-10,4418	0,982531	0,52
Dipropilditiocarbamato (4)	-7,21695	0,987893	1,59
(3R)-3-fluoropirrolidinoditiocarbamato (5)	-6,30766	0,989410	1,90
(3S)-3-fluoropirrolidinoditiocarbamato (6)	-6,56413	0,988982	1,81
Etilmetilditiocarbamato (7)	-5,59149	0,990607	2,14
Etilpropilditiocarbamato (8)	-6,79579	0,988595	1,73
Dietanolditiocarbamato (9)	-6,07046	0,989806	1,98

Metil(etanol)ditiocarbamato (10)	-5,55628	0,990666	2,15
Etil(etanol)ditiocarbamato (11)	-6,23572	0,989530	1,92
Ácido araquidônico	-15,1054	0,974827	0,03

Fonte: Autoria própria

Quadro F: Valores de energia livre de Gibbs ou energia de afinidade (kcalmol^{-1}), K_i (nmolL^{-1} ou nM) e RMSD (Å) obtidos para o sítio ativo 2701ACD da enzima ciclooxigenase-2 co-cristalizada com o ácido araquidônico.

Ligante	Energia / Kcalmol^{-1}	K_i/nM	RMSD/ Å
Dietilditiocarbamato (1)	-6,26791	0,989477	1,91
Pirrolidinoditiocarbamato (2)	-6,19430	0,989599	1,93
Benzilditiocarbamato (3)	-10,0517	0,983178	0,65
Dipropilditiocarbamato (4)	-7,21819	0,987891	1,59
(3R)-3-fluoropirrolidinoditiocarbamato (5)	-6,15068	0,989672	1,95
(3S)-3-fluoropirrolidinoditiocarbamato (6)	-6,36358	0,989317	1,88
Etilmetilditiocarbamato (7)	-5,64408	0,990519	2,12
Etilpropilditiocarbamato (8)	-6,74698	0,988677	1,75
Dietanolditiocarbamato (9)	-6,01394	0,989901	1,99
Metil(etanol)ditiocarbamato (10)	-5,38129	0,990958	2,21
Etil(etanol)ditiocarbamato (11)	-6,36835	0,989309	1,88
Ácido araquidônico	-15,1081	0,974823	0,03

Fonte: Autoria própria

Quadro G: Valores de energia livre de Gibbs ou energia de afinidade (kcalmol^{-1}), K_i (nmolL^{-1} ou nM) e RMSD (Å) obtidos para o sítio ativo 701DIF da enzima ciclooxigenase-2 co-cristalizada com o fármaco diclofenaco.

Ligante	Energia / Kcalmol^{-1}	K_i/nM	RMSD/ Å
Dietilditiocarbamato (1)	-6,41431	0,989232	1,86
Pirrolidinoditiocarbamato (2)	-6,24347	0,989517	1,92
Benzilditiocarbamato (3)	-10,5093	0,982419	0,50
Dipropilditiocarbamato (4)	-7,61268	0,987233	1,46
(3R)-3-fluoropirrolidinoditiocarbamato (5)	-6,40768	0,989243	1,86
(3S)-3-fluoropirrolidinoditiocarbamato (6)	-6,33485	0,989365	1,89
Etilmetilditiocarbamato (7)	-5,67004	0,990476	2,11
Etilpropilditiocarbamato (8)	-6,93389	0,988365	1,69
Dietanolditiocarbamato (9)	-6,42027	0,989222	1,86

Metil(etanol)ditiocarbamato (10)	-5,11229	0,991409	2,29
Etil(etanol)ditiocarbamato (11)	-6,09861	0,989759	1,97
Diclofenaco	-11,6168	0,980584	0,13

Fonte: Autoria própria

Quadro H: Valores de energia livre de Gibbs ou energia de afinidade (kcalmol^{-1}), K_i (nmolL^{-1} ou nM) e RMSD (Å) obtidos para o sítio ativo 1701DIF da enzima ciclooxigenase-2 co-cristalizada com o fármaco diclofenaco.

Ligante	Energia / Kcalmol^{-1}	K_i/nM	RMSD/ Å
Dietilditiocarbamato (1)	-6,27418	0,989466	1,91
Pirrolidinoditiocarbamato (2)	-6,26851	0,989476	1,91
Benzilditiocarbamato (3)	-10,6439	0,982195	0,45
Dipropilditiocarbamato (4)	-7,31261	0,987733	1,56
(3R)-3-fluoropirrolidinoditiocarbamato (5)	-6,36910	0,989308	1,88
(3S)-3-fluoropirrolidinoditiocarbamato (6)	-6,34295	0,989351	1,88
Etilmetilditiocarbamato (7)	-5,65794	0,990496	2,11
Etilpropilditiocarbamato (8)	-7,04168	0,988185	1,65
Dietanolditiocarbamato (9)	-6,17731	0,989628	1,94
Metil(etanol)ditiocarbamato (10)	-5,27161	0,991142	2,24
Etil(etanol)ditiocarbamato (11)	-6,43725	0,989617	1,85
Diclofenaco	-10,5372	0,982372	0,49

Fonte: Autoria própria

Quadro I: Valores de energia livre de Gibbs ou energia de afinidade (kcalmol^{-1}), K_i (nmolL^{-1} ou nM) e RMSD (Å) obtidos para o sítio ativo 2701DIF da enzima ciclooxigenase-2 co-cristalizada com o fármaco diclofenaco.

Ligante	Energia / Kcalmol^{-1}	K_i/nM	RMSD/ Å
Dietilditiocarbamato (1)	-6,43958	0,989190	1,85
Pirrolidinoditiocarbamato (2)	-6,32691	0,989378	1,89
Benzilditiocarbamato (3)	-10,2364	0,982871	0,59
Dipropilditiocarbamato (4)	-7,65458	0,987163	1,45
(3R)-3-fluoropirrolidinoditiocarbamato (5)	-6,23209	0,989536	1,92
(3S)-3-fluoropirrolidinoditiocarbamato (6)	-6,36283	0,989318	1,88
Etilmetilditiocarbamato (7)	-5,70235	0,990422	2,10
Etilpropilditiocarbamato (8)	-6,88557	0,988446	1,70

Dietanolditiocarbamato (9)	-6,11726	0,989728	1,96
Metil(etanol)ditiocarbamato (10)	-5,08979	0,991446	2,30
Etil(etanol)ditiocarbamato (11)	-6,18400	0,989617	1,94
Diclofenaco	-11,4461	0,980866	0,18

Fonte: Autoria própria

Quadro J: Valores de energia livre de Gibbs ou energia de afinidade (kcalmol^{-1}), K_i (nmolL^{-1} ou nM) e RMSD (Å) obtidos para o sítio ativo 3701DIF da enzima ciclooxigenase-2 co-cristalizada com o fármaco diclofenaco.

Ligante	Energia / Kcalmol^{-1}	K_i/nM	RMSD/ Å
Dietilditiocarbamato (1)	-6,29756	0,989427	1,90
Pirrolidinoditiocarbamato (2)	-6,37485	0,989298	1,87
Benzilditiocarbamato (3)	-10,6106	0,982251	0,46
Dipropilditiocarbamato (4)	-7,25242	0,987834	1,58
(3R)-3-fluoropirrolidinoditiocarbamato (5)	-6,33071	0,989372	1,89
(3S)-3-fluoropirrolidinoditiocarbamato (6)	-6,26514	0,989481	1,91
Etilmetilditiocarbamato (7)	-5,68371	0,990453	2,10
Etilpropilditiocarbamato (8)	-6,82342	0,988549	1,72
Dietanolditiocarbamato (9)	-6,30537	0,989414	1,90
Metil(etanol)ditiocarbamato (10)	-5,56591	0,990649	2,14
Etil(etanol)ditiocarbamato (11)	-6,28997	0,989439	1,90
Diclofenaco	-11,2011	0,981272	0,27

Fonte: Autoria própria

Quadro K: Valores de energia livre de Gibbs ou energia de afinidade (kcalmol^{-1}), K_i (nmolL^{-1} ou nM) e RMSD (Å) obtidos para o sítio ativo 601IBP da enzima ciclooxigenase-2 co-cristalizada com o fármaco ibuprofeno.

Ligante	Energia / Kcalmol^{-1}	K_i/nM	RMSD/ Å
Dietilditiocarbamato (1)	-6,30967	0,989407	1,90
Pirrolidinoditiocarbamato (2)	-6,27030	0,989447	1,91
Benzilditiocarbamato (3)	-9,86349	0,983490	0,71
Dipropilditiocarbamato (4)	-6,98419	0,988281	1,67
(3R)-3-fluoropirrolidinoditiocarbamato (5)	-6,35139	0,989337	1,88
(3S)-3-fluoropirrolidinoditiocarbamato (6)	-6,26646	0,989479	1,91
Etilmetilditiocarbamato (7)	-5,64041	0,990525	2,12
Etilpropilditiocarbamato (8)	-7,05000	0,988171	1,65
Dietanolditiocarbamato (9)	-6,09243	0,989770	1,97

Metil(etanol)ditiocarbamato (10)	-5,78036	0,990291	2,07
Etil(etanol)ditiocarbamato (11)	-6,28066	0,989455	1,91
Ibuprofeno	-12,3670	0,979343	0,12

Fonte: Autoria própria

Quadro L: Valores de energia livre de Gibbs ou energia de afinidade (kcalmol^{-1}), K_i (nmolL^{-1} ou nM) e RMSD (Å) obtidos para o sítio ativo 1139IBP da enzima ciclooxigenase-2 co-cristalizada com o fármaco ibuprofeno.

Ligante	Energia / Kcalmol^{-1}	K_i/nM	RMSD/ Å
Dietilditiocarbamato (1)	-6,03059	0,989873	1,99
Pirrolidinoditiocarbamato (2)	-6,41843	0,989225	1,86
Benzilditiocarbamato (3)	-10,4198	0,982567	0,53
Dipropilditiocarbamato (4)	-7,06199	0,988151	1,65
(3R)-3-fluoropirrolidinoditiocarbamato (5)	-6,21146	0,989571	1,93
(3S)-3-fluoropirrolidinoditiocarbamato (6)	-6,42301	0,989218	1,86
Etilmetilditiocarbamato (7)	-5,58243	0,990622	2,14
Etilpropilditiocarbamato (8)	-6,49697	0,989094	1,83
Dietanolditiocarbamato (9)	-6,61347	0,988899	1,79
Metil(etanol)ditiocarbamato (10)	-5,35940	0,990995	2,21
Etil(etanol)ditiocarbamato (11)	-6,39413	0,989266	1,87
Ibuprofeno	-11,0978	0,981443	0,30

Fonte: Autoria própria

Quadro M: Valores de energia livre de Gibbs ou energia de afinidade (kcalmol^{-1}), K_i (nmolL^{-1} ou nM) e RMSD (Å) obtidos para o sítio ativo 601ID8 da enzima ciclooxigenase-2 co-cristalizada com o ácido mefenâmico.

Ligante	Energia / Kcalmol^{-1}	K_i/nM	RMSD/ Å
Dietilditiocarbamato (1)	-6,44130	0,989187	1,85
Pirrolidinoditiocarbamato (2)	-6,41481	0,989231	1,86
Benzilditiocarbamato (3)	-10,5826	0,982297	0,47
Dipropilditiocarbamato (4)	-7,79314	0,986933	1,40
(3R)-3-fluoropirrolidinoditiocarbamato (5)	-6,40930	0,989241	1,86
(3S)-3-fluoropirrolidinoditiocarbamato (6)	-6,45025	0,989172	1,85
Etilmetilditiocarbamato (7)	-5,75939	0,990326	2,08
Etilpropilditiocarbamato (8)	-7,05336	0,988166	1,65
Dietanolditiocarbamato (9)	-6,18132	0,989621	1,94

Metil(etanol)ditiocarbamato (10)	-5,46354	0,990821	2,18
Etil(etanol)ditiocarbamato (11)	-6,18212	0,989620	1,94
Ácido mefenâmico	-10,9074	0,981759	0,36

Fonte: Autoria própria

Quadro N: Valores de energia livre de Gibbs ou energia de afinidade (kcalmol^{-1}), K_i (nmolL^{-1} ou nM) e RMSD (Å) obtidos para o sítio ativo 1138ID8 da enzima ciclooxigenase-2 co-cristalizada com o ácido mefenâmico.

Ligante	Energia / Kcalmol^{-1}	K_i/nM	RMSD/ Å
Dietilditiocarbamato (1)	-6,35605	0,989329	1,88
Pirrolidinoditiocarbamato (2)	-6,29244	0,989436	1,90
Benzilditiocarbamato (3)	-10,3664	0,982655	0,54
Dipropilditiocarbamato (4)	-7,12764	0,988042	1,62
(3R)-3-fluoropirrolidinoditiocarbamato (5)	-6,14880	0,989676	1,95
(3S)-3-fluoropirrolidinoditiocarbamato (6)	-6,16136	0,989655	1,95
Etilmetilditiocarbamato (7)	-5,73094	0,990374	2,09
Etilpropilditiocarbamato (8)	-6,74385	0,988682	1,75
Dietanolditiocarbamato (9)	-6,18893	0,989608	1,94
Metil(etanol)ditiocarbamato (10)	-5,67499	0,990467	2,11
Etil(etanol)ditiocarbamato (11)	-6,11942	0,989725	1,96
Ácido mefenâmico	-11,1960	0,981281	0,27

Fonte: Autoria própria