Avaliação da potencialização da ação anticancerígena *in* silico após a glicosilação da molécula de Apigenina

Luiz Fernando Cordeiro Souza[1], Antônio José Coimbra dos Santos[2], Luiz Felipe Neves Frazão[3], Weberton Dorásio Sobrinho[4], Evilanna Lima Arruda[5]

[1] Discente da Faculdade de Medicina da Universidade de Rio Verde – Campus Goianésia, PIBIC UniRV.
[2] Discente da Faculdade de Medicina da Universidade de Rio Verde – Campus Rio Verde.
[3] Discente da Faculdade de Medicina da Universidade de Rio Verde – Campus Goianésia.
[4] Discente da Faculdade de Medicina da Universidade de Rio Verde – Campus Goianésia.
[5] Docente da Faculdade de Medicina da Universidade de Rio Verde – Campus Goianésia, evilanna.lima@unirv.edu.br.

.

Reitor:
Prof. Me. Alberto Barella Netto

Pró-Reitor de Pesquisa e Inovação:
Prof. Dr. Carlos César E. de Menezes

Editor Geral:
Prof. Dra. Andrea Sayuri Silveira Dias Terada

Editores de Seção:
Profa. Dra. Ana Paula Fontana
Prof. Dr. Hidelberto Matos Silva
Prof. Dr. Fábio Henrique Baia
Pra. Dra. Muriel Amaral Jacob
Prof. Dr. Matheus de Freitas Souza
Prof. Dr. Warley Augusto Pereira

Fomento:
Programa PIBIC/PIVIC UniRV/CNPq 2022-2023

Resumo: Este artigo tem como objetivo ampliar o conhecimento científico sobre a apigenina, um flavonoide encontrado em plantas como camomila, salsinha e aipo, e seu potencial no tratamento de doenças cancerígenas. O uso de fitoterápicos na medicina tem raízes profundas na história da humanidade, e, devido aos custos elevados de medicamentos convencionais e à crescente preferência por abordagens naturais, a pesquisa nesse campo é de extrema importância. O estudo empregou ferramentas como ChemDraw, GUSAR e PassOnline para prever a bioatividade e toxicidade da apigenina, especialmente quando glicosilada, um processo conhecido por potencializar suas propriedades anticancerígenas. Além disso, foi realizada uma revisão de artigos científicos na plataforma PubMed. Os estudos *in silico* revelaram a apigenina glicosilada como uma promissora ferramenta no combate ao câncer, contribuindo para um entendimento mais profundo dos medicamentos fitoterápicos. Esses resultados oferecem valiosos insights sobre os mecanismos de ação do composto e sua eficácia no tratamento de neoplasias. Consequentemente, estudos nessa temática representam um avanço significativo no desenvolvimento de terapias para doenças cancerígenas. Esses achados alimentam a esperança de futuros tratamentos mais eficazes, proporcionando benefícios tanto para a comunidade científica quanto para aqueles afetados por essas graves condições de saúde.

Palavras-Chave: Drug Delivery. Fitoterapia. Neoplasia.

Evaluation of the enhancement of the anticancer action in silico after the glycosylation of the Apigenin molecule.

Abstract: This article aims to expand the scientific knowledge about apigenin, a flavonoid found in plants such as chamomile, parsley, and celery, and its potential in the treatment of cancerous diseases. The use of herbal remedies in medicine has deep roots in human history, and, due to the high costs of conventional medications and the growing preference for natural approaches, research in this field is of utmost importance. The study employed tools like ChemDraw, GUSAR, and PassOnline to predict the bioactivity and toxicity of apigenin, especially when glycosylated, a process known to enhance its anticancer properties. Additionally, a review of scientific articles was conducted on the PubMed platform. *In silico* studies revealed glycosylated apigenin as a promising tool in cancer treatment, contributing to a deeper understanding of herbal medications. These findings provide valuable insights into the mechanisms of action of the compound and its effectiveness in treating neoplasms. Consequently, studies in this field represent a significant advancement in the development of therapies for cancerous diseases. These discoveries fuel hope for more effective future treatments, benefiting both the scientific community and those affected by these serious health conditions.

Keywords: *Drug Delivery. Phytotherapy. Neoplasia.*

Introdução

A fitoterapia é um campo da medicina que estuda a possibilidade do uso de plantas como agentes promotores da saúde. Sendo assim, as substâncias das plantas são extraídas de forma natural, sendo majoritariamente através da infusão (chá). Dessa forma, o que diferencia a fitoterapia dos fármacos químicos baseados em plantas não são os componentes, e sim a forma com que esses são extraídos e administrados. Diferentemente dos fitoterápicos, que não são trabalhados de forma a isolar e colher em certa quantidade a substância com as propriedades terapêuticas, os fármacos industriais passam por um processo químico, o que acaba levando à uma dosagem mais eficaz, no entanto em algumas culturas esse método ainda não é acolhido pela sociedade (Falzon; Balabanova, 2017).

A neoplasia é uma lesão causada por uma reprodução celular desenfreada e autônoma, seja pelo defeito em mecanismos de morte celular ou por outras falhas genéticas que levem a uma maior proliferação das células, em que essas sejam menos diferenciadas. Sendo assim, entende-se que uma neoplasia maligna, popular e erroneamente chamada de câncer ou tumor, é um distúrbio de crescimento exagerado e descontrolado de células imaturas, as quais levam a um desequilíbrio no organismo de seu hospedeiro, podendo leva-lo à morte (Filho *et al*., 2016).

De acordo com as escritas de Filho, Pereira e Andrade (2016), um fator importante para o desenvolvimento de tumores é a angiogênese excessiva que assim como a invasão e a metástase, são pré-requisitos para o crescimento das células neoplásicas. Dessa forma, conclui-se que são necessários os vasos para o fornecimento de oxigênio e nutrientes para os tumores, sendo assim, ao se suprimir a vascularização a progressão da patologia é conduzida à necrose ou apoptose das células, confirmando assim a relevância desse mecanismo de inibição neoplásica.

A Apigenina é uma substância natural, classificada como um flavonoide, encontrada em diversas plantas, como em frutas e vegetais (Madunic *et al*., 2018). Em estudos recentes, a substância foi apresentada como uma nova estratégia para tratar os casos de câncer, seja induzindo a apoptose ou inibindo a proliferação de células neoplásicas por estimular o fim do ciclo celular. Outros mecanismos conhecidos do flavonoide são a autofagia, inibição da migração e invasão celular e estimulação de respostas imunológicas contra as células cancerígenas (Yan *et al*., 2017).

A glicosilação é um processo enzimático responsável por produzir ligações glicídicas de sacarídeos com outros sacarídeos, lipídeos e até mesmo proteínas. As maneiras mais comuns de se realizar esse processo, é pela ligação da glicose na proteína pelo átomo de Oxigênio (O) ou pelo átomo de Nitrogênio (N). Sendo assim, a glicosilação da molécula de apigenina é uma glicosilação ligada a O, geralmente feita adicionando-se açúcares na hidroxila da serina, que é um resíduo da treonina (Munkley; Elliot, 2016).

Diante disso, a partir de estudos confirmou-se que a glicosilação pode impactar na localização e na estabilidade de receptores na superfície celular e sua sensibilidade a uma gama ampla de moléculas sinalizadoras e ligantes, o que leva a uma desregulação em vários processos tumorais tais como adesão, migração, divisão celular, proliferação, diferenciação, metástase e até mesmo na angiogênese (Bousseau *et al*., 2018).

Segundo o estudo de Imran *et al*. (2020), levando-se em consideração as propriedades anticancerígenas da apigenina, tais como a inibição de crescimento celular e apoptose em tumores por quase todas as partes do corpo, começa-se a considerar seu uso no tratamento da patologia, visto que suas atividades têm potencial de tratamento, além de uma baixa toxicidade quando administrada.

Ademais, outros estudos, tanto *in vitro* quanto *in vivo* comprovam a sua baixa toxicidade, levando ao raciocínio de seu uso para estimular a resposta imune dos pacientes, regular o ciclo de proliferação da célula e diminuir o crescimento de vasos sanguíneos que regam os tumores. Portanto, o uso da apigenina, mostra-se ser seguro, principalmente por incrementar a eficácia de várias drogas quimioterapêuticas e por causar o mínimo dano por toxicidade em células normais, visto que sua ação é altamente seletiva para as células neoplásicas, e não para as células hígidas (Kowalczyk *et al*., 2017; Shankar *et al*., 2017; Yan *et al*., 2017).

Sabe-se que os atuais fármacos antineoplásicos são medicamentos de grande importância, no entanto apresentam diversos efeitos adversos e ainda não foram otimizados ao ponto de manifestarem uma eficácia absoluta. Sendo assim, percebe-se a necessidade de buscar novos fármacos para combater a doença, que sejam menos inconvenientes aos pacientes e possuam um grau de eficácia mais aceitável. Dessa forma, o objetivo deste trabalho é analisar a possibilidade de introduzir a apigenina glicoconjugada na indústria farmacêutica, realizando previsões *in silico* e revisando artigos já existentes sobre o assunto.

Material e Métodos

Para a realização do presente estudo, as informações químicas, tais como: estrutura e massa molecular, SMILE e nomenclatura química, acerca da apigenina, será utilizada a plataforma ChemDraw, que oferece todas as informações supracitadas, que são necessárias para as previsões in silico, ao se desenhar a molécula. Além disso, os compostos foram também submetidos nas plataformas PASS Online e GUSAR, sendo ambas disponíveis gratuitamente nos links que serão citados nas referências.

A plataforma PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances) Online, é um software utilizado para prever o potencial biológico de uma molécula, sendo que ele fornece previsões de diversos tipos de atividades biológicas baseando-se na estrutura da molécula lançada no programa. Dessa forma, a plataforma trabalha com a Pa (probabilidade de ação), que é a estimativa do composto pertencer a classe dos compostos que realizam a ação descrita, e também com a Pi (probabilidade de inação), sendo uma estimativa do composto pertencer à classe dos compostos que não realizam a ação descrita.

Já o software GUSAR faz a previsão in silico dos valores da Dose Letal em 50% (DL50) em ratos, utilizando-se das quatro vias de administração, sendo elas: oral, intraperitoneal, subcutânea e inalação. O programa utiliza de dados retirados do Banco de Dados de Toxicidade (SYMYX MDL), que fornece informações de 10 mil estruturas químicas, sobre a sua toxicidade em ratos.

Além das plataformas utilizadas para se fazer as previsões bioativas dos compostos, foi realizada, também, a busca de artigos, que se deu pelo programa PubMed – um dos principais sites de indexação dos artigos publicados ao redor do mundo todo. A pesquisa foi feita com os seguintes descritores: apigenina e câncer, sendo eles colocados na língua inglesa. Assim cruzou-se as palavras com o operador booleano “and”. Ademais, buscou-se também as publicações sobre medicina natural, utilizando-se o descritor fitoterapia, além do descritor glicosilação para estudos acerca do processo, sendo estes também na língua inglesa. Os fatores de inclusão foram publicações dos últimos 10 anos e somente artigos publicados em inglês ou português.

Resultados e Discussão

De acordo com a busca feita na plataforma PASS Online, chega-se ao resultado de que a apigenina (Figura 1), após ser glicosilada (Figura 2) apresenta sim melhorias na maioria das suas probabilidades de ação. Sendo assim, o Quadro 1 relata a comparação entre a predição das ações em potenciais da molécula antes e após receber em sua estrutura a adição da glicose, evidenciando que as atividades anticarcinogênica, antioxidante, antineoplásica, potencialização da expressão de TP53 e a varredura de radicais livres, que compreendem alguns dos diversos mecanismos de combate às células cancerígenas tanto para tratamento como prevenção, são significativamente ampliadas, excetuando-se por uma única atividade que seria a agonista de apoptose, sendo assim pouco significativa quando se comparada ao restante das vias de combate.

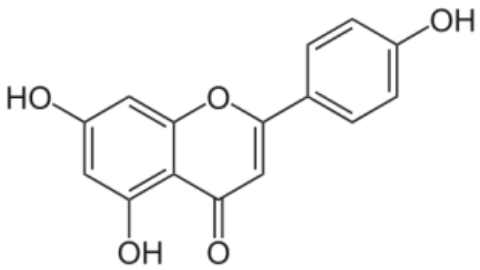

Figura 1 – Molécula de Apigenina
Fonte: ChemDraw

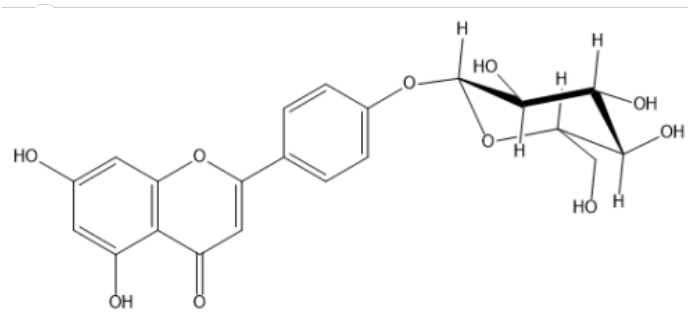

Figura 2 – Molécula de Apigenina Glicosilada em uma das posições possíveis
Fonte: ChemDraw

Quadro 1 – Comparação entre as ações prováveis na molécula de apigenina normal e glicosilada

Atividade	Probabilidade de ação (Pa)	
	Apigenina	Apigenina Glicosilada
Agonista de Apoptose	0,847	0,754
Anticarcinogênica	0,641	0,926
Antioxidante	0,732	0,831
Antineoplásica	0,774	0,828
Potencializador da expressão de TP53	0,873	0,951
Varredura de radicais livres	0,719	0,949

*Notas: Quanto mais a Pa estiver próxima de 1, maior a probabilidade da atividade acontecer.
Fonte: Autoria própria

Após a análise sobre a serventia do composto para um possível tratamento do câncer, fez-se necessário analisar a sua toxicidade, visando a implementação de um recurso terapêutico o mais seguro possível. No entanto, devido às limitações do estudo essa análise foi feita de forma online

através da plataforma Gusar, onde se prevê o dano da molécula de acordo com a via de administração.

Quadro 2 – Comparação da toxicidade entre a apigenina normal e a glicosilada

Via de Administração	Toxicidade	
	Apigenina	Apigenina Glicosilada
Intraperitoneal	Classe 5	Não Tóxico
Intravenosa	Classe 4	Não Tóxico
Oral	Classe 4	Classe 5
Subcutâneo	Não Tóxico	Não Tóxico

*Notas: Quanto maior a classe, menor o grau de toxicidade do fármaco.
Fonte: Autoria própria

Conforme demonstrado no Quadro 2, a adição de glicose na apigenina, além de melhorar as atividades com potencial anticancerígeno, aprimoram também a molécula em relação à toxicidade, o que enfatiza ainda mais a possibilidade desse conjunto se tornar um fármaco seguro e eficaz para o tratamento e prevenção de patologias neoplásicas.

Segundo Ghanbari-Mohaved *et al*. (2023), os flavonoides desempenharam um papel importante ao modular sinalizações de vias importantes para o crescimento e manutenção das células-tronco cancerígenas, sendo esse o principal mecanismo de ação da molécula de apigenina para combater o desenvolvimento de neoplasias. No entanto, pode-se detalhar ainda mais esse tipo de atividade, explicando as diversas vias de atuação que geram um resultado positivo para o tratamento e prevenção de neoplasias, conforme mostrado na Figura 3.

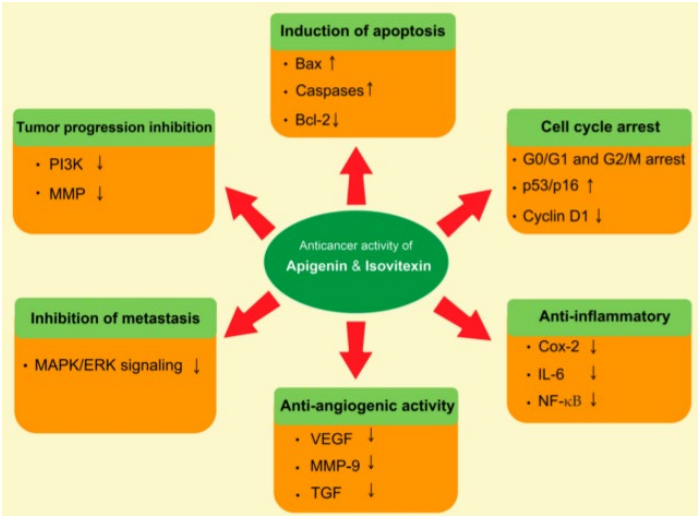

Figura 3 – Atividades anticancerígenas da Apigenina
Fonte: Ghanbari-Mohaved *et al*. (2023)

Outras fórmulas medicamentosas estão chegando aos possíveis tratamentos anticancerígenos, tais como os glicoconjugados. As células cancerígenas possuem um tropismo por moléculas de glicose, visto que essas possuem um alto nível de metabolização o que exige grande quantidade de matéria fornecedora de energia (ATP). Sendo assim, as células neoplásicas expressam em suas superfícies vários receptores de glicose, fazendo com que os glicoconjugados funcionem na forma de "Drug Delivery", facilitando a entrada da substância portadora da propriedade terapêutica à célula (Arruda *et al*., 2020).

Diante disso, subentende-se que a Apigenina tem grande potencial para iniciar uma nova linha de medicamentos, baseada na fitoterapia, que abrange desde doenças mais básicas até as mais

complexas, como o exemplo das neoplasias. Dito isso, conforme citado anteriormente, o uso de medicações extraídas de forma natural, apesar de não passarem por processos industriais de isolamento dos compostos, podem sim apresentar bons resultados, conforme era esperado pelo projeto. Sendo assim, compreendendo a função da molécula de glicose adicionada no composto, infere-se que com o passar do tempo a técnica de glicosilação poderá revolucionar a indústria farmacêutica quanto ao processo de formulação de novos remédios.

Conclusão

Os resultados demonstraram que em todos os aspectos a glicosilação apresentou ser benéfica no que se buscava. Dessa forma, observou-se que a molécula glicosilada se transformou em um possível fármaco de potência ainda maior para o combate de patologias cancerígenas. Além disso, o estudo, ao se basear nos artigos mais relevantes da literatura, apresentou que de fato a apigenina tem grandes chances para começar a ser tratada como uma nova droga antineoplásica, devido às diversas vias de indução de morte celular e seus mais diversos mecanismos de ação envolvidos no processo farmacológico. No entanto, este trabalho apresenta suas limitações. Devido ao curto prazo para se realizar um estudo de mais completo e também às barreiras para se aplicar uma metodologia experimental, seja clínica ou laboratorial, esta pesquisa não foi capaz de trazer seus próprios resultados a partir da administração da droga proposta e compará-la com o desfecho da aplicação da apigenina normal. Portanto, como implicações futuras, infere-se que mais estudos acerca da temática devem ser realizados para explorar a aplicação prática e experimental do composto, a fim de buscar um avanço no tratamento do câncer, visto que o flavonoide em conjunto com a glicose se apresenta, de acordo com os resultados obtidos, bastante eficaz e segura para combater tal patologia. Sendo assim, espera-se que com o avanço na tecnologia e dos novos estudos, a apigenina glicosilada faça uma revolução nos tratamentos quimioterápicos.

Agradecimentos

Deixo aqui meus mais sinceros agradecimentos à Pró-Reitoria de Pesquisa e Inovação da Universidade de Rio Verde, pela grande oportunidade que me foi dada para contribuir com a pesquisa, assunto sério e de grande relevância para a evolução das tecnologias mundiais. Serei eternamente grato por levar em meu currículo um artigo fomentado pelo Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica da UniRV.

Referências Bibliográficas

ARRUDA, E. L. *et al*. Zidovudine glycosylation by filamentous fungi leads to a better redox stability and improved cytotoxicity in B16F10 murine melanoma cells. **Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemestry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents)**, v. 20, n. 14, p. 1688-1694, 2020.

BOUSSEAU, S. *et al*. Glycosylation as new pharmacological strategies for diseases associated with excessive angiogenesis. **Pharmacology and Therapeutics**, v. 191, p. 92-122, 2018.

GHANBARI-MOVAHED, M. *et al*. A. Anticancer Potential of Apigenin and Isovitexin with Focus on Oncogenic Metabolism in Cancer Stem Cells. **Metabolites**. v. 13, n. 404, 2023.

FALZON, C; BALABANOVA, A. Phytotherapy: An Introduction to Herbal Medicine. **Primary Care – Clinics in Office Pratice**, v. 44, n.2, p. 217-227, 2017.

FILHO, G.; PEREIRA, F.; ANDRADE, V. **Bogliolo Patologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016.

IMRAN, M. *et al*. Apigenin as an anticancer agent. **Phytotherapy Research**, v. 34, n. 8, p. 1812-1828, 2020.

KOWALCZYK, A. *et al*. Insights into novel anticâncer applications for apigenin. **Advances in Clinical and Experiment Medicine**, v. 26, n. 7, p. 1143–1146, 2017.

MADUNIC, J. *et al*. Apigenin: A dietary flavonoid with diverse anticancer properties. **Cancer Letters**, v. 413, p. 11-22, 2018.

MUNKLEY, J.; ELLIOT, D. J. Hallmarks of glycosylation in cancer. **Oncotarget**, v. 7, n. 23, p. 35478-35489, 2016.

PERKIN ELMER. **Chemdraw**, 2021. Página inicial. Disponível em: <https://chemdrawdirect.perkinelmer.cloud/js/sample/index.html#>. Acesso em: 15 de dezembro de 2021.

SHANKAR, E. *et al*. Plant Flavone Apigenin: na Emerging Anticancer Agent. **Current Pharmacology Reports**, v. 3, n. 6, p. 423-446, 2017.

WAY2DRUG. **Gusar**, 2016. Acute Rat Toxicity. Disponível em: <http://www.way2drug.com/gusar/acutoxpredict.html>. Acesso em: 20 de dezembro de 2021.

WAY2DRUG. **PASS Online**, 2021. Services. Disponível em <http://www.way2drug.com/passonline/predict.php>. Acesso em: 15 de dezembro de 2021.

YAN, X. *et al*. Apigenin in cancer therapy: Anti-cancer effects and mechanisms of action. **Cell and Bioscience**, v. 7, n. 1, p. 1-16, 2017.