**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS**

**ESCOLA DE CIÊNCIAS MÉDICAS, FARMACÊUTICAS E BIOMÉDICAS**

**CURSO DE MEDICINA**

***Artemisia annua:* estudo *in silico* de possíveis candidatos com atividade antineoplásica**

**LUCAS EDUARDO ALMEIDA FRANÇA**

**LOUISE TAINÁ TELES TOBIAS**

**VINICIUS BARRETO DA SILVA**

**CLAYSON MOURA GOMES**

**LEONARDO LUIZ BORGES**

**GOIÂNIA – GOIÁS**

**2021**

***Artemisia annua:* estudo *in silico* de possíveis candidatos com atividade antineoplásica**

**Lucas E. Almeida França, Louise T. Teles Tobias, Vinicius B. da Silva, Clayson M. Gomes & Leonardo L. Borges.**

*Escola de Ciências Médicas, Farmacêuticas e Biomédicas, Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Goiânia, Goiás, Brasil*

**ABSTRACT:** *Artemisia annua*, also known as "Qhing Hao", is a plant originally from Asia and used in traditional Chinese medicine due to its antimalarial, antioxidant, anti-inflammatory and anti-tumor properties. The proposed study presents possible antineoplastic candidate compounds from *A. annua.* In all, seven compounds were subjected to *in silico* tools to analyze potential biological, pharmacokinetic and toxicity activities. The predicted results demonstrated possible antineoplastic, antimutagenic, apoptotic agonist, anticarcinogenic and chemoprotective activities of the selected compounds. Among them, chlorogenic acid and apigenin proved to be the most promising, as they have favorable pharmacokinetic and toxicity predictions, in addition to having activity for targets such as ALK tyrosine kinase and Hexokinase-2, present in some types of lung cancer and breast, respectively. However, preclinical and clinical studies are needed to confirm the results found, as well as interactions with other medications.

**Keywords:** *Artemisia annua*, Qhing Hao, antimalarials, antioxidant, anti-inflammatory, antitumor, antineoplastic, *A. annua*, *in silico*, antimutagenic, apoptotic agonist, anticarcinogenic, chemoprotective.

**RESUMO:** A *Artemisia annua*, também conhecida como "Qhing Hao", é uma planta originária da Ásia e usada na medicina tradicional chinesa devido as suas propriedades antimaláricas, antioxidante, anti-inflamatórias e antitumoral. O estudo proposto apresenta possíveis compostos candidatos a antineoplásicos provenientes da *A. annua*. Ao todo, sete compostos foram submetidos a ferramentas *in silico* para analisar potenciais atividade biológicas, farmacocinéticas e de toxicidade. Os resultados preditos demonstraram possíveis atividades antineoplásicas, antimutagênicas, agonista apoptótico, anticarcinogênica e quimioprotetora dos compostos selecionados. Dentre elas, o ácido clorogênico e a apigenina mostraram-se as mais promissoras, tendo em vista possuírem predições farmacocinéticas e de toxicidade favoráveis, além de apresentarem atividade para alvos como a ALK tiroquinase e Hexoquinase tipo 2, presentes em alguns tipos de câncer de pulmão e mama, respectivamente. São necessários, no entanto, estudos pré-clínicos e clínicos que ratifiquem os resultados encontrados, bem como interações com outros medicamentos.

**Palavras-chaves:** *Artemisia annua*, Qhing Hao, antimalárico, antioxidante, anti-inflamatório, antitumoral, antineoplásico, *A. annua*, *in silico*, antimutagênico, agonista apoptótico, anticarcinogênico, quimioprotetora.

**1 INTRODUÇÃO**

Os produtos naturais e seus derivados têm sido a base de compostos terapêuticos por milênios[1]. Segundo a Organização mundial da Saúde (OMS), cerca de 80% da população mundial depende de medicamentos tradicionais para os cuidados básicos de saúde, sendo as plantas e seus derivados as principais fontes.[2] Da mesma maneira, a Organização das Nações Unidas para alimentação e Agricultura (FAO), estima em aproximadamente 422 mil a existência de espécies de plantas conhecidas, dos quais mais de 50 mil são exclusivamente usados para o tratamento de diversas doenças [3]. Ainda assim, mesmo o reino vegetal sendo o arsenal mais importante na descoberta de novas substâncias, acredita-se que exista um potencial inexplorado de moléculas com atividades biológicas promissoras, com possibilidade de vir a se tornarem fármacos utilizados no tratamento de inúmeras enfermidades prevalentes em nosso meio[4].

Nos últimos anos, o aumento do número de casos de câncer tem sido responsáveis pela segunda principal causa de morte mundialmente.[5]. As estimativas da Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (IARC) prevê o surgimento de aproximadamente 28,4 milhões de novos casos anualmente até 2040.[6] O câncer, por definição, representa um conjunto de doenças que têm em comum o crescimento anormal de células, capazes de invadir tecidos e se disseminarem para outros órgãos, podendo levar a óbito.[7] Novas drogas com alvos específicos capazes de interferir nos processos neoplásicos tem sido estudados, tendo em vista o surgimento de novas mutações, mecanismo de resistências e efeitos adversos que comprometem os tratamentos propostos.[8].

A *Artemisia annua* é uma planta originária da Ásia bastante conhecida por suas propriedades antimaláricas.[9] Sabe-se que os extratos e outros compostos oriundos dessa planta possuem propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes, antimicrobianas e imunorreguladoras usados milenarmente na medicina tradicional chinesa e, nos últimos anos, vem sendo estudados por suas propriedades antineoplásicas e quimioprotetora.[10-11]

A partir dos avanços das tecnologias computacionais, novas ferramentas como a modelagem e simulação molecular tem sido utilizados na busca virtual de novos compostos bioativos.[12] Nesse contexto, os estudos *in silico* surgem como alternativa viável aos experimentos *in vivo*, capaz de direcionar o desenvolvimento racional de novos fármacos, otimizar o tempo de pesquisa, além de aumentar a probabilidade pré-teste dos ensaios clínicos.[13] Neste estudo, alguns compostos sabidamente presentes nos extratos da *A. annua* foram testadas por ferramentas *in silico* com o intuito de predizer novas moléculas candidatas com atividade antineoplásica.

**2 PANORAMA E IMPORTÂNCIA DA DESCOBERTA DE NOVOS FÁRMACOS A PARTIR DE PLANTAS MEDICINAIS**

Produtos naturais são utilizados pela humanidade desde os primórdios, quando por adversidades, como doenças ou para fins de sobrevivência, recorriam a determinados tipos de plantas como fonte de substâncias terapêuticas ainda desconhecidas.[14] Historicamente, os povos indígenas, bem como os Mesopotâmios, Egípcios e Chineses, são conhecidos por utilizarem e desenvolverem formulações a partir de extratos de plantas e outros produtos naturais.[15].

A descoberta, pelos povos da antiguidade, acerca de produtos extraídos da natureza, permitiu o aperfeiçoamento de preparos com diversas finalidades: tintura, venenos, conservantes, antimaláricos e alucinógenos usados em rituais religiosos. Um dos primeiros registros do uso dessas substâncias estão descritos no papiro Ebers, descoberto por George Ebers em 1872 e datado de 1500 anos a.C, mostrava o uso de substâncias nas etapas dos processos de mumificação e outros extratos usados em doenças comuns da época .[16] A partir da mistura e macerados de diversas plantas, como a *Pinus sp*. e a *Junniperus Communis L*. eram obtidos monoterpenos, sesquiterpenos e óleos essenciais com atividade antibactericidas e antifúngicas para conservação dos corpos em processo de decomposição.[17]

Na Grécia antiga, Sócrates foi executado ao ingerir uma bebida à base de coniina extraída da cicuta (*Conium maculatum*), conhecida por suas propriedades antiespasmódica e anti-inflamatória[18]. Esse talvez seja o envenenamento mais famoso da história e de como a aplicabilidade dos produtos naturais podem ser diversas de acordo com a finalidade pretendida. [19]

Na idade moderna (1453-1789), a extração de substâncias a partir de produtos naturais ganharam impulso com o isolamento da morfina a partir da extração do Ópio.[20] Apesar de conhecida desde os povos Pré-Helênicos por suas propriedades analgésicas e sedativas, a sua extração e o uso em larga escala só foram viáveis devido aos novos métodos de purificação, isolamento dos sais de morfina e o advento da seringa.[21-22]

Com a descoberta dos salicilatos e, posteriormente, suas formas menos tóxicas (ácido acetilsalicílico), foi possível sintetizar os derivados da salicina, inaugurando a era dos fármacos sintéticos.[23] Mesmo com o *boom* de moléculas sintéticas criadas posteriormente, ainda existiam dificuldades em elaborar moléculas estáveis ao seu receptor alvo, semelhantes aos encontrados na natureza.[24]

As plantas medicinais, porém, são um arsenal de moléculas bastante complexas, resultado de anos de evolução devido a necessidade em adquirir mecanismos de defesa e de sobrevivência, com bioativos altamente seletivos ao seu receptor alvo.[25] No entanto, esse rico conjunto de moléculas bioativas só passaram a ser transformados em novos fármacos quando levados em consideração as estruturas do alvo biológico, biodisponibilidade, além das propriedades ADMET, que incluem características de absorção, distribuição, metabolização, eliminação e toxicidade.[26-27].

Vários métodos têm sido utilizados na obtenção de novas moléculas com potenciais efeitos terapêuticos, inclusive de outras fontes naturais. A fitoquímica estuda a natureza dos metabólitos secundários produzidos pelos vegetais. Os metabólitos secundários geralmente são aqueles compostos que não estão diretamente relacionados ao desenvolvimento e crescimento da planta, mas possuem papel fundamental na adaptação. Os métodos que podem ser usados no isolamento desses metabólitos consistem principalmente em técnicas de fracionamento, empregando solventes com polaridades diferentes e as técnicas cromatográficas, que permitem processos de separação de compostos a partir de matrizes complexas. Entre as técnicas mais modernas, podemos citar a *Medium Pressure Liquid Chromatography* (MPLC), *high-performance liquid chromatography* (HLPC), e *liquid chromatografy*-MS (LC-MS).[28-29]

Os produtos naturais ainda permanecem como grande fonte na busca de novos fármacos com atividade para diversas doenças incidentes e prevalentes em nosso meio.[30] Estima-se que, segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), os tratamentos à base de produtos naturais sejam utilizados por cerca de 80% da população mundial.[2] Além disso, sabe-se que, há aproximadamente 52 mil espécies de plantas medicinais utilizadas com propósitos terapêuticos, dos quais 8% estão ameaçadas de extinção.[3] Na indústria farmacêutica, por exemplo, de todos os antitumorais aprovados pela FDA entre 1940 e 2014, cerca de 49% são advindos de produtos naturais ou derivados deles, o que prova ainda a influência dos produtos naturais e sua importância na descoberta de novos medicamentos específicos.[31].

A descoberta de novas substâncias advindas de plantas possui caráter multidisciplinar, que envolve tanto o uso do conhecimento popular de diferentes povos e etnias, quanto da farmacologia, fitoquímica e de novas abordagens da química medicinal. Com um direcionamento mais assertivo, é possível que novos fármacos de interesse médico surjam como alternativa para a cura de doenças atualmente existentes e de novas doenças que desafiam o aumento da expectativa de vida visto globalmente.[32].

**3 ESTUDOS *IN SILICO* NABUSCA VIRTUAL DE NOVOS COMPOSTOS**

Por muito tempo a pesquisa de novos medicamentos eram feitas por “tentativa e erro” em espécimes vivos, com testagem repetidas e ao acaso até obter-se o que era desejado. Com o surgimento dos estudos *in silico*, tem-se uma nova ferramenta para seleção de compostos bioativos com potenciais efeitos biológicos promissores para utilização como fármacos. Dessa maneira, a simulação por meios computacionais permitiu numerosas vantagens como aplicação de diversos filtros de rastreio estruturais, de propriedades fármaco-similares, de distribuição espacial, filtros farmacofóricos e de ancoramento.[33].

Entre os filtros tridimensionais, dá-se bastante importância aos modelos farmacofóricos. A definição de farmacóforo consiste na presença de propriedades físico-químico de uma estrutura ou parte dela que caracterizam sua atividade biológica e interação com o alvo molecular.[34]. Desse modo, a partir do conhecimento desses arranjos estruturais, que podem ser tanto doadores ou aceptores de hidrogênio, quanto pela presença de anéis aromáticos e de outras particularidades - é possível distinguir moléculas que possuem atividade ou não de acordo com o que é desejado.[35].

Nesse sentido, partindo do princípio de que “moléculas similares possuem atividades semelhantes”, outra estratégia bastante usada também é a triagem virtual de fármaco-similares.[36] Moléculas muito parecidas possuem alta probabilidade de exercerem as mesmas atividades em determinados alvos específicos e compartilharem o mesmo perfil farmacocinético.[37] No entanto, existe a possibilidade das moléculas analisadas não corresponderem à molécula em estudo computacional, de forma que, quando pouco aproveitados, o uso de diferentes bibliotecas virtuais, moléculas e ferramentas utilizadas podem interferir no resultado.[36]

Assim, outra vantagem dos estudos *in silico* é a capacidade de armazenar informações e o seu compartilhamento em bibliotecas virtuais. O crescente aumento de bancos de dados tem por finalidade a identificação de novos compostos com chances de ligarem-se a um alvo biológico, sendo, dessa forma, de grande interesse para a química medicinal. Como consequência, plataformas como o Pubchem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>), Drugbank ([https://go.drugbank.com](https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov)), BindingDB ([https://www.bindingdb.org/bind/index.jsp](https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov)) e Protein Data Bank (PDB) ([https://www.rcsb.org](https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov)) são atualizadas periodicamente com informações sobre estruturas químicas, propriedades físico-químicas, patentes, compostos e bioensaios finalizados.[38]

Com essas estratégias, os estudos computacionais se estabelecem como uma alternativa para a racionalização e direcionamento dos testes *in vitro* e *in vivo****,*** uma vez que podem reduzir os custos do método, predizer as análises farmacodinâmicas e farmacocinéticas, com potencial redução dos testes em animais, aumentando assim a probabilidade pré-teste.[39]

Dessa forma, é de suma importância destacar que, os estudos *in silico*não substituem os testes pré-clínicos e clínicos, sendo estes ainda necessários para garantir maior segurança e efetividade aos novos fármacos estudados.[40]

**4 CÂNCER**

O câncer por definição se constitui em uma anormalidade genética que promove o crescimento e disseminação desregulada de células mutantes e disfuncionais. Essas mutações são provenientes tanto por causas hereditárias, quanto pela exposição a fatores de risco ambientais, tendo, portanto, uma etiologia multifatorial e epigenética.[41]

Apresenta-se como uma das principais causas de morte em todo mundo, e alta taxa de diagnósticos nos últimos anos, cerca de 11 milhões de pessoas em 2018 com aumento significativo de aproximadamente 16 milhões de diagnósticos em 2020.[42] Estima-se que grande parte do aumento de diagnósticos é devido à transição demográfica com aumento da idade média de vida populacional, associada à exposição contínua a fatores de risco modificáveis.[41]

A detecção precoce é de grande importância, uma vez que o prognóstico está diretamente relacionado ao estágio evolutivo da doença. Nesse sentido, medidas de saúde coletiva que visam a prevenção e rastreio de neoplasias são de responsabilidade dos sistemas de gestão em saúde nacional.[42]

Em relação à classificação das neoplasias, os tumores são divididos quanto a sua característica benigna ou maligna. As neoplasias benignas possuem impressões macro e microscópicas menos prejudiciais, normalmente não causam invasão com potencial metastático, possuem melhor prognóstico e podem ser ressecados cirurgicamente em sua grande maioria. Já as neoplasias malignas são também chamadas de cânceres, e têm como principal característica o potencial de invasão e formação de metástases, causando efeitos danosos ao organismo com alta taxa de morbimortalidade, tendo, portanto, um prognóstico mais reservado e terapêuticas sistêmicas ou paliativas.[41]

Existem diversos tipos e finalidades de tratamentos para o câncer, e suas indicações dependem do tipo de neoplasia, dos órgãos envolvidos e do estadiamento. Dentre as principais modalidades terapêuticas, temos: quimioterapia, radioterapia, ressecção cirúrgica, hormonioterapia e imunoterapia. A terapêutica pode utilizar métodos combinados, em tempos estratégicos, visando protocolos e o perfil de pacientes envolvidos em cada tipo de câncer, dentro da situação clínica característica.[42]

Por ser uma doença de grande valor epidemiológico, com alta morbimortalidade, diversos estudos são criados a fim de melhorar os métodos terapêuticos já existentes e buscar novas modalidades que possam beneficiar os pacientes. Nesse sentido, os estudos *in silico* contribuem significativamente para encontrar fármacos promissores a serem utilizados em estudos pré-clínicos. [43].

**5 COMPOSTOS ANTINEOPLÁSICOS**

Os fármacos antineoplásicos possuem diferentes mecanismos de ação e formas estruturais com o objetivo em comum de bloquear a multiplicação celular exacerbada. Os principais tipos de antineoplásicos incluem os agentes alquilantes, análogos antimetabólitos do ácido fólico, pirimidinas e purinas, antagonistas hormonais e hormônios.[44]

Sabe-se que a capacidade de multiplicação desorganizada das células tumorais deriva da capacidade que elas possuem de evitar processos ordenados de morte celular. Dessa forma, alguns tratamentos buscam induzir a apoptose para que esse mecanismo de escape seja evitado e decorra em proliferação de células cancerígenas.[45]

Embora o intuito dos tratamentos antineoplásicos seja destruir apenas células malignas, inevitavelmente células normais também são atingidas nesse processo, tanto nos métodos terapêuticos sistêmicos (quimioterápicos), quanto nos métodos locais ou alvo (radioterapia, imunoterapia, ressecção com margem). Consequentemente, efeitos adversos são experimentados, tais como: alopecia, perda de peso, *delirium*, anemia, neuropatia periférica etc. Dessa forma, a escolha do tratamento deve levar em consideração esses principais efeitos, correlacionando-os com o perfil de necessidade do paciente oncológico.[45]

O grande contraponto experimentado, são os chamados mecanismos de resistência farmacológica, definido como a capacidade de sobrevivência da célula oncológica apesar do uso de dosagens significativas. São dois principais fenômenos envolvidos no processo de resistência: a tolerância medicamentosa e a persistência. A tolerância parte da sobrevivência das células à exposição medicamentosa por determinado período, já a persistência é um mecanismo pertencente a algumas células oncológicas de um determinado tumor a não sofrerem efeito terapêutico do fármaco experimentado, perpetuando consequentemente sua linhagem.[46]

Estudos atuais sugerem que o uso de fármacos de origem natural que promovem o estresse do Retículo Endoplasmático celular são bons promissores na indução de apoptose de células cancerígenas, tendo pouco efeito em células normais, o que promove por consequência a diminuição de efeitos adversos. Alguns quimioterápicos convencionais foram criados a partir de produtos naturais, tais como: Taxol, Epotilona e Alcaloides de Vinca, isso expressa a importância dos produtos naturais como potenciais vias de pesquisas relacionadas ao tratamento oncológico.[45]

**6 *Artemisia annua***

A *Artemisia annua* é uma planta originária da Ásia e vem ganhando importância nos últimos anos devido a suas propriedades antimicrobianas, antioxidante e antitumorais[47]. Em Chinês antigo é conhecida por “Qhing Hao”, que significa “Chá verde”, mas vulgarmente são atribuídos outros nomes como “Erva de São João” e “Sweet-Wormwood”. O gênero *Artemisia* da família Astereaceae (Compositae) possui cerca de 350 espécies e estão amplamente distribuídas em todo o mundo, em especial nas zonas temperadas da Ásia, Europa e América do Norte.[48]

A *A. annua* é descrita morfologicamente como uma planta perene anual de pequeno porte, que pode atingir até aproximadamente 2 metros de altura, de folhas pinatissectas verdes e dispostas de forma alternada. Apresentam caule único e flores amareladas que sofrem polinização cruzada pelo vento ou por insetos.[49]

A composição da *A. annua* apresenta uma separação técnica em compostos voláteis e não voláteis. Dentre os voláteis, os óleos essenciais como o canfeno, beta-canfeno, cetona isoartemisia, 1-cânfora, beta-cariofileno e o beta-pineno correspondem a 70% desse grupo. Entre os não voláteis, os elementos principais são os sesquiterpenoides, flavanoides, cumarínicos, algumas proteínas como a beta galactosidase e esteroides como o beta-sisterol. [50].

Há mais de 2000 anos, os extratos da *A. annua* tem sido usado na medicina tradicional chinesa.[51] Os componentes são extraídos da infusão com água quente do caule, flores, folhas e frutos da planta. As folhas, após a secagem, são usados na extração da artemisinina, seu bioativo mais famoso.[52]

Sabe-se que, a artemisinina, uma lactona sesquirtepênica endoperóxido, possui atividade antimalárica, atuando principalmente nas estruturas da membrana que compõem os protozoários do gênero *Plasmodium.*[49][53]*.* A artemisinina, também conhecida como “Qinghaosu”, foi isolada primeiramente em 1972, na China, e acredita-se que a *A. annua* seja a única fonte natural dessa molécula.[54-55]

A *A. annua*, além de sua atividade antimalárica, também é usada para outros tipos de doenças infecciosas. Ainda como antiparasitário, é conhecida sua ação contra outros protozoários intracelulares, como o *Toxoplasma gondii* e a *Leishimania sp*, bastante incidentes em países com poucos recursos.[56-57].

Como antiviral, alguns estudos têm demonstrado que os extratos da *A. annua* possuem atividade promissora como virucida direto contra os vírus da Hepatite A (HVA), Vírus da Imunodeficiência Adquirida (HIV) e Herpes simplex 1 (HSV1); causadores da Hepatite A aguda, Síndrome da Imunodeficiência Adquirida, Herpes Labial e Encefalite herpética, respectivamente.[58-60]

A atividade antineoplásica de compostos extraídos da *A. annua* vem sendo estudada há algumas décadas. O crescente interesse tem sido em decorrência da baixa toxicidade relatada pela artemisinina, usada tradicionalmente contra a malária sem quaisquer notificações graves de intoxicação.[61] Diversos artigos mostraram que essa molécula e seus derivados exercem atividade citotóxica *in vitro*  contra várias células cancerígenas. Curiosamente, esses compostos parecem possuir capacidade de se converterem em agentes alquilantes e induzirem dano oxidativo às células neoplásicas. Foram descritos também sua atuação em fases específicas do ciclo de células cancerosas, diminuição da angiogênese e redução do potencial de disseminação dessas células neoplásicas.[62]

Neuroblastoma[63], Câncer colorretal[64], Câncer de Pulmão[65], Melanoma[66], Câncer de Pâncreas[67], Câncer de Próstata[68] e Câncer de Mama[69] são alguns exemplos aplicáveis de como os constituintes químicos da *A. annua* apresentam atividade contra diversos tipos de cânceres. No entanto, os mecanismos de ação em células tumorais ainda permanecem em discussão.[70]

Outras propriedades promissoras estudas da *A. annua* incluem sua atividade imunorreguladora e anti-inflamatória em doenças autoimunes (Artrite Reumatoide, Lúpus Eritematoso Sistêmico)[71] e alérgicas (Asma)[72]; também é conhecida sua ação como inibidora da adipogênese em tecidos humanos na prevenção de distúrbios metabólicos[73]; e na redução da expressão de genes responsáveis pela remodelação óssea na osteoporose.[74]

Recentemente, com a pandemia de COVID-19 causada pelo SARS-COV-2, responsável por casos de Síndrome Respiratória Aguda Grave (SRAG), os extratos das folhas da *A. annua* surgiram como alternativa segura no tratamento de pacientes infectados com o SARS-COV-2, sendo capaz de interromperem *in vitro* a replicação de duas cepas do vírus, diminuir atividade inflamatória decorrente da infecção, bem como o processo fibrótico. No entanto, ainda são necessários estudos mais robustos com fortes evidências que corroborem seu mecanismo de ação, segurança e eficácia contra o novo coronavírus.[75-77]

**7 METODOLOGIA**

7.1 Pesquisa bibliográfica

O presente estudo foi realizado entre fevereiro e dezembro de 2020 na Pontifícia Universidade Católica de Goiás, no Brasil. Nas plataforma de pesquisa PubMeD, ScienceDirect e SciELO, compostos ativos de plantas medicinais usados na medicina tradicional e com potencial atividade antineoplásica foram investigados. A partir do levantamento da literatura acerca da *A. annua*, sete compostos anteriormente descritos e categorizados com atividade antineoplásica foram selecionados (Tabela 1) e posteriormente confirmados no banco de dados PubChem.[78]

|  |
| --- |
| **Tabela 1**: Compostos selecionados da *A. annua* avaliados por meio de ferramentas *in silico* |
| Compostos |
| Ácido Clorogênico |
| Apigenina |
| Arteméter |
| Casticina |
| Cinaroside |
| Cirsiliol |
| Cirsilineol |

7.2 Predição *in silico* da atividade biológica e dos alvos biológicos

Os compostos selecionados foram submetidos a uma análise no servidor PASS online ([http://way2drug.com/PassOnline/](https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov)) para avaliar o potencial de atividade biológica. Com base na sua fórmula estrutural, o servidor é capaz de prever mais de 300 efeitos farmacológicos e mecanismos bioquímicos. A partir dessa etapa, os compostos selecionados foram investigados quanto a sua provável atividade antineoplásica, antiproliferativa, anticarcinogênica, citotóxica e quimioprotetora.

Posteriormente, esses compostos foram submetidos ao servidor PharmMapper ([http://www.lilab-ecust.cn/pharmmapper/](https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov)) para a identificação de novos alvos condizentes com as atividades biológicas pesquisadas anteriormente. Esse servidor hospeda uma biblioteca de farmacóforos a partir de um conjunto de dados presentes no BindingDB e DrugBank, além de incluir estruturas do *Protein Data Bank* (PDB) com ligantes co-cristalizados. O mapeamento lista uma classificação de alvos candidatos mais promissores pontuados por um score de probabilidade de alinhamento.

7.3 Predição *in silico* do perfil farmacocinético e metabólico

Para a predição farmacocinética e metabólico dos compostos selecionados, utilizou-se o servidor SwissADME ([http://www.swissadme.ch](https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov)). Nesse servidor, propriedades como absorção gastrointestinal, permeabilidade da membrana hematoencefálica e interferência com alguns citocromos da família P450 (CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6 e CYP3A4) foram analisadas.[79]

Concomitantemente, esse servidor aplica a regra de Lipinski para avaliar qualitativamente a biodisponibilidade por via oral desses compostos. A regra de Lipinsk estabelece 4 parâmetros múltiplos de 5 para que uma molécula tenha boa disponibilidade após ingerido: log P maior ou igual a 5, aceptores de hidrogênio menor ou igual a 10, doadores de ligação de hidrogênio menor ou igual a 5 e massa molecular menor ou igual a 500 Da. Pela regra, a molécula deve apresentar uma ou nenhuma violação desses quatro parâmetros.[79]

7.4 Predição *in silico* de toxicidade

Para a predição de toxicidade, empregou-se o servidor ProTox-II ([https://tox-new.charite.de/protox\_II/](https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov)). Esse servidor incorpora 33 modelos com pontuações diferentes baseados em compostos semelhantes já testados em ensaios *in vitro* e *in vivo*. Por similaridade, é possível prever qual o perfil de hepatotoxicidade, citotoxicidade, carcinogenicidade, mutagenicidade, imunotoxicidade, e alvos de toxicidade dos compostos em questão.[80]

Por fim, para predizer a cardiotoxicidade utilizou-se o servidor Pred-hERG 4.2 ([http://predherg.labmol.com.br](https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov)), que por sua vez também analisa a capacidade que determinados compostos possuem de bloquear canais hERG K(+) associados à arritmia cardíaca grave.[81]

7.5 Percepção farmacofórica

Os modelos farmacofóricos foram criados usando o servidor online Pharmagist ([https://bioinfo3d.cs.tau.ac.il/PharmaGist/](https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov)), responsável por gerar farmacóforos tridimensionais a partir de um complexo de moléculas que compartilham características físico-químicas em comum para interagir com o receptor-alvo. O resultado é exibido em uma página de saída e atribuído uma pontuação de acordo com o melhor alinhamento flexível entre o conjunto de moléculas submetidas.

Os parâmetros utilizados para cada candidato a farmacóforo são baseados em seis características, que incluem doadores e receptores de ligação de hidrogênio, características espaciais, do anel aromático e interações hidrofóbicas.[82] Neste estudo, para considerar um candidato a farmacóforo, são necessários pelo menos três características distintas.

**9 CONCLUSÃO**

Por meio deste trabalho, foi observado que as moléculas selecionadas presentes na *A. annua* apontaram possíveis atividade antineoplásicas, antimutagênicas, agonista apoptótico, anticarcinogênica e quimioprotetora quando analisadas por meio de ferramentas *in silico*. Dentre elas, o ácido clorogênico e a apingenina mostraram-se as mais promissoras, tendo em vista o seu perfil farmacocinético favorável, com baixa probabilidade de causar toxicidade oral aguda, insuficiência hepática, ocorrência de arritmias e outros efeitos cardíacos graves. Somado a isso, pode-se inferir que as moléculas com alvo para a ALK tiroquinase e Hexoquinase do tipo 2, encontrados em alguns tipos de câncer de pulmão e mama, respectivamente, apresentam-se como alternativa terapêutica na obtenção de quimioterápicos mais específicos e com boa tolerabilidade na adesão ao tratamento. Ao todo, no entanto, são necessários estudos pré-clínicos e clínicos que corroborem os resultados aqui encontrados, bem como melhor avaliação de interações com outros medicamentos, uma vez que as predições dos compostos selecionados apresentaram atividade sobre as isoenzimas da família P450.

**REFERÊNCIAS**

[1]     Baker DD, Chu M, Oza U, Rajgarhia V. The value of natural products to future pharmaceutical discovery. Nat Prod Rep. 2007;24(6):1225–44.

[2]       World Health Organization. National policy on traditional medicine and regulation of herbal medicines: report of a WHO global survey. Geneva: WHO; 2005.

[3]       Schippmann U, Leaman DJ, Cunningham AB. Impact of Cultivation and Gathering of Medicinal Plants on Biodiversity: Global Trends and Issues. In: FAO. 2002. p. 1–21.

[4]       Phillipson JD, Anderson LA. Ethnopharmacology and western medicine. J Ethnopharmacol. 1989;25(1):61–72.

[5]       Mattiuzzi C, Lippi G. Current Cancer Epidemiology glossary. J Epidemiol Glob Health. 2019;9(4):217–22.

[6]       Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. CA Cancer J Clin. 2021;71(3):209–49.

[7]       Alves EA, Tavares GG, Borges LL. Importância Da Atenção Farmacêutica Para a Quimioterapia Antitumoral. Rev Bras Mil Ciências [Internet]. 2020;6(15). Available from: https://rbmc.emnuvens.com.br/rbmc/article/view/35

[8]       Buyel JF. Plants as sources of natural and recombinant anti-cancer agents. Biotechnol Adv. 2018;36(2):506–20.

[9]       Woerdenbag HJ, Lugt CB, Pras N. Artemisia annua L.: a source of novel antimalarial drugs. Pharm Weekbl Sci Ed. 1990;12(5):169–81.

[10]     Feng X, Cao S, Qiu F, Zhang B. Traditional application and modern pharmacological research of Artemisia annua L. Pharmacol Ther. 2020;216:107650.

[11]     Lang SJ, Schmiech M, Hafner S, Paetz C, Steinborn C, Huber R, et al. Antitumor activity of an Artemisia annua herbal preparation and identification of active ingredients. In: Phytomedicine. Elsevier; 2019. p. 152962.

[12]     Pappalardo F, Russo G, Tshinanu FM, Viceconti M. In silico clinical trials: concepts and early adoptions. Brief Bioinform. 2019;20(5):1699–708.

[13]     Piñero J, Furlong LI SF. In silico models in drug development: where we are. Curr Opin Pharmacol. 2018;42:111–21.

[14]     Cragg GM, Newman DJ. Natural products: A continuing source of novel drug leads. Biochim Biophys Acta. 2013;1830(6):3670–95.

[15]     Sneader W. Drug Discovery: A History. John Wiley & Sons; 2005. 472 p.

[16]     Agosta WC. Medicines and drugs from plants. J Chem Educ. 1997;74(7):857–62.

[17]     Abdel-Maksoud G, El-Amin AR. A review on the materials used duringthe mummification processes in ancient Egypt. Mediterr Archaeol Archaeom. 2011;11(2):129–50.

[18]     Vetter J. Poison hemlock (Conium maculatum L.). Food Chem Toxicol. 2004;42(9):1373–82.

[19]     Hotti H, Rischer H. The killer of Socrates: Coniine and Related Alkaloids in the Plant Kingdom. Molecules. 2017;22(11):1962.

[20]     Bharate SS, Mignani S, Vishwakarma RA. Why Are the Majority of Active Compounds in the CNS Domain Natural Products? A Critical Analysis. J Med Chem. 2018;61(23):10345–74.

[21]     Hamilton GR, BAskett TF. In the arms of morpheus: the development of morphine for postoperative pain relief. Can J Anesth Can d’anesthésie. 2000 Apr;47(4):367–74.

[22].     Myers K. A history of injection treatments – I the syringe. Phlebology. 2019;34(5):294–302.

[23]     Mahdi JG. Medicinal potential of willow: A chemical perspective of aspirin discovery. J Saudi Chem Soc. 2010;14(3):317–22.

[24]     Piccirillo E, Do Amaral AT. Virtual screening of bioactive compounds: Concepts and aplications. Quim Nova. 2018;41(6):662–77.

[25]     Montanari CA, Bolzani VDS. Planejamento racional de fármacos baseado em produtos naturais. Quim Nova. 2001;24(1):105–11.

[26].     Wang J, Hou T. Advances in computationally modeling human oral bioavailability. Adv Drug Deliv Rev. 2015;86:11–6.

[27]     Lin J, Sahakian D, de Morais S, Xu J, Polzer R, Winter S. The Role of Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion and Toxicity in Drug Discovery. Curr Top Med Chem. 2005;3(10):1125–54.

[28]     Fumagali E, Aparecida R, Gonçalves C, Fátima M De, Silva P. Produção de metabólitos secundários em cultura de células e tecidos de plantas: O exemplo dos gêneros Tabernaemontana e Aspidosperma. Rev Bras Farmacogn. 2008;18(4):627–41.

[29]     Wolfender J, Marti G, Thomas A, Bertrand S. Current approaches and challenges for the metabolite profiling of complex natural extracts. J Chromatogr A. 2015;1382:136–64.

[30].     Balunas MJ, Kinghorn AD. Drug discovery from medicinal plants. Life Sci. 2005;78(5):431–41.

[31]     Newman DJ, Cragg GM. Natural Products as Sources of New Drugs from 1981 to 2014. J Nat Prod. 2016;79(3):629–61.

[32]     Maciel MAM, Pinto AC, Jr VFV, Grynberg NF, Echevarria A. Plantas Medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. Quim Nova. 2002;25(3):429–38.

[33]     Poroikov V, Druzhilovskiy D. Drug Repositioning: New Opportunities for Older Drugs. In: In Silico Drug Design. Elsevier; 2019. p. 3–17.

[34]     Kinghorn AD, Falk H, Gibbons S, Kobayashi J, Asakawa Y, Liu J-K. Progress in the Chemistry of Organic Natural Products. Vol. 110, Springer. 2019. 274 p.

[35]     Grisoni F, Consonni V, Todeschini R. Impact of Molecular Descriptors on Computational Models. Methods Mol Biol. 2018;1825:171–209.

[36]     Kubinyi H. Chemical similarity and biological activities. J Braz Chem Soc. 2002;13(6):717–26.

[37]    Ferreira RS, Glaucius O, Andricopulo AD. Integração das técnicas de triagem virtual e triagem biológica automatizada em alta escala: oportunidades e desafios em P&D de fármacos. Quim Nova. 2011;34(10):1770–8.

[38]     Koutsoukas A, Simms B, Kirchmair J, Bond PJ, Whitmore A V, Zimmer S, et al. From in silico target prediction to multi-target drug design : Current databases , methods and applications. J Proteomics. 2011;74(12):2554–74.

[39]     Madden JC, Enoch SJ, Paini A, Cronin MTD. A Review of In Silico Tools as Alternatives to Animal Testing : Principles , Resources and Applications. 2020;48(4):146–72.

[40]     Jean-Quartier C, Jeanquartier F, Jurisica I, Holzinger A. In silico cancer research towards 3R. BMC Cancer. 2018 Dec 12;18(1).

[41]     Kumar V, Abbas A k., Aster JC. Robbins Basic Phatology. Elsevier. 2016. 927 p.

[42]     Wang J, Lei K, Han F. Tumor microenvironment : recent advances in various cancer treatments. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2018;22(12):3855–64.

[43]     Fang J, Liu C, Wang Q, Lin P, Cheng F. In silico polypharmacology of natural products. Brief Bioinform. 2017;19(6):1153–71.

[44]     Carcedo CH. Manual Básico de Farmacologia. 2018. 743 p.

[45]     Kim C, Bonglee K. Anti-Cancer Natural Products and Their Bioactive A Review. Nutrients. 2018;10(8):1021.

[46]     Chatterjee N, Bivona TG. Polytherapy and Targeted Cancer Drug Resistance. Trends Cancer. 2019;5(3):170–82.

[47].     Septembre-Malaterre A, Lalarizo Rakoto M, Marodon C, Bedoui Y, Nakab J, Simon E, et al. Artemisia annua, a Traditional Plant Brought to Light. Int J Mol Sci. 2020;21(14):4986.

[48]     Watson LE, Bates PL, Evans TM, Unwin MM, Estes JR. Molecular phylogeny of Subtribe Artemisiinae (Asteraceae), including Artemisia and its allied and segregate genera. BMC Evol Biol. 2002;2(17).

[49]     Iranshahi M, Emami SA, Mahmoud-soltani M. Detection of Sesquiterpene Lactones in Ten Artemisia Species Population of Khorasan Provinces. Iran J Basic Med Sci. 2007;10(3):183–8.

[50]     Shahrajabian MH, Sun W, Cheng Q. Exploring Artemisia annua L., artemisinin and its derivatives, from traditional Chinese wonder medicinal science. Not Bot Horti Agrobot Cluj-Napoca. 2020;48(4):1719–41.

[51]     Mueller MS, Karhagomba IB, Hirt HM, Wemakor E. The potential of Artemisia annua L . as a locally produced remedy for malaria in the tropics : agricultural , chemical and clinical aspects. J Ethnopharmacol. 2000;73:487–93.

[52]     Christen P, Veuthey J. New Trends in Extraction , Identification and Quantification of Artemisinin and its Derivatives. Curr Med Chem. 2001;8(15):1827–39.

[53]     Luo X, Shen C. The Chemistry , Pharmacology , and Clinical Applications of Qinghaosu ( Artemisinin ) and Its Derivatives. Med Res Rev. 1987;7(1):29–52.

[54]     Klayman DL, Lin AJ, Acton N, Scovill JP, Hoch JM, Milhous WK, et al. Isolation of Artemisinin (Qinghaosu) from Artemisia Annua Growing in the United States. J Nat Prod. 1984;47(4):715–7.

[55]     Meiyi Z, Guoqiao L, Ying L, Zelin L, Tianwei L, Linrong S. Discovery of Qinghaosu (Artemisinin)-History of Research and Development of Artemisinin-Based Antimalarials. In: Artemisinin-Based and Other Antimalarials: Detailed Account of Studies by Chinese Scientists Who Discovered and Developed Them. 2018. p. 1–67.

[56]     de Oliveira TC, Silva DAO, Rostkowska C, Béla SR, Ferro EAV, Magalhães PM, et al. Toxoplasma gondii: Effects of Artemisia annua L. on susceptibility to infection in experimental models in vitro and in vivo. Exp Parasitol. 2009;122(3):233–41.

[57]     De Sarkar S, Sarkar D, Sarkar A, Dighal A, Chakrabarti S, Staniek K, et al. The leishmanicidal activity of artemisinin is mediated by cleavage of the endoperoxide bridge and mitochondrial dysfunction. Parasitology. 2019;146(4):511–20.

[58]     Seo DJ, Lee M, Jeon SB, Park H, Jeong S, Lee BH, et al. Antiviral activity of herbal extracts against the hepatitis A virus. Food Control. 2017;72:9–13.

[59]     Lubbe A, Seibert I, Klimkait T, Van Der Kooy F. Ethnopharmacology in overdrive: The remarkable anti-HIV activity of Artemisia annua. J Ethnopharmacol. 2012;141(3):854–9.

[60]     Karamoddini MK, Emami SA, Ghannad MS, Sani EA, Sahebkar A. Antiviral activities of aerial subsets of Artemisia species against Herpes Simplex virus type 1 (HSV1) in vitro. Asian Biomed. 2011;5(1):63–8.

[61]     Kooy F Van Der, Sullivan SE. The complexity of medicinal plants : The traditional Artemisia annua formulation, current status and future perspectives. J Ethnopharmacol. 2013;150(1):1–13.

[62]     Bhaw-Luximon A, Jhurry D. Artemisinin and its derivatives in cancer therapy: Status of progress, mechanism of action, and future perspectives. Vol. 79, Cancer Chemotherapy and Pharmacology. 2017. p. 451–66.

[63]     Michaelis M, Kleinschmidt MC, Barth S, Rothweiler F, Geiler J, Wilhelm H, et al. Anti-cancer effects of artesunate in a panel of chemoresistant neuroblastoma cell lines. Biochem Pharmacol. 2010;79:130–6.

[64]     Li LN, Zhang HD, Yuan SJ, Yang DX, Wang L, Sun ZX. Differential sensitivity of colorectal cancer cell lines to artesunate is associated with expression of beta-catenin and E-cadherin. Eur J Pharmacol. 2008;588(1):1–8.

[65].     Mu D, Zhang W, Chu D, Liu T, Xie Y, Fu E. The role of calcium , P38 MAPK in dihydroartemisinin-induced apoptosis of lung cancer PC-14 cells. Cancer Chemother Pharmacol. 2008;61(4):639–45.

[66]     Cabello CM, Lamore SD, Iii WBB, Qiao S, Azimian S, Lesson JL, et al. The redox antimalarial dihydroartemisinin targets human metastatic melanoma cells but not primary melanocytes with induction of NOXA-dependent apoptosis. Invest New Drugs. 2012;30:1289–301.

[67]     Chen H, Sun B, Pan S, Jiang H, Sun X. Dihydroartemisinin inhibits growth of pancreatic cancer cells in vitro and in vivo. Anticancer Drugs. 2009;20(2):131–40.

[68]     Efferth T, Sauerbrey A, Olbrich A, Gebhart E, Rauch PIA, Weber HO, et al. Molecular Modes of Action of Artesunate in Tumor Cell Lines. Mol Pharmacol. 2003;64(2):382–94.

[69]    Gravett AM, Liu WM, Krishna S, Haynes WCRK, Wilson NL, Dalgleish AG. In vitro study of the anti-cancer effects of artemisone alone or in combination with other chemotherapeutic agents. Cancer Chemother Pharmacol. 2011;67(3):569–77.

[70]     Neill PMO, Barton VE, Ward SA. The Molecular Mechanism of Action of Artemisinin—The Debate Continues. Molecules. 2010;15(3):1705–21.

[71]     Zhang YX, Sun HX. Immunosuppressive effect of ethanol extract of Artemisia annua on specific antibody and cellular responses of mice against ovalbumin. Immunopharmacol Immunotoxicol. 2009;31(4):625–30.

[72]     Huang J, Ma LQ, Yang Y, Wen N, Zhou W, Cai C, et al. Chloroform Extract of Artemisia annua L. Relaxes Mouse Airway Smooth Muscle. Evidence-based Complement Altern Med. 2017;2017.

[73]     Lee J, Kim MH, Lee JH, Jung E, Yoo ES, Park D. Artemisinic acid is a regulator of adipocyte differentiation and C/EBP δ expression. J Cell Biochem. 2012;113(7):2488–99.

[74]     Lee SK, Kim H, Park J, Kim HJ, Kim KR, Son SH, et al. Artemisia annua extract prevents ovariectomy-induced bone loss by blocking receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand-induced differentiation of osteoclasts. Sci Rep. 2017;7(1):1–12.

[75]     Nair MS, Huang Y, Fidock DA, Polyak SJ, Wagoner J, Towler MJ, et al. Artemisia annua L. extracts inhibit the in vitro replication of SARS-CoV-2 and two of its variants. J Ethnopharmacol. 2021;274:114016.

[76]     Law S, Leung AW, Xu C. Is the traditional Chinese herb “Artemisia annua” possible to fight against COVID-19? Integr Med Res. 2020;9(3):100474.

[77]     Khan T, Khan MA, Mashwani Z-R, Ullah N, Nadhman A. Therapeutic potential of medicinal plants against COVID-19: The role of antiviral medicinal metabolites. Biocatal Agric Biotechnol. 2021;31:101890.

[78]     Kim S, Thiessen PA, Bolton EE, Chen J, Fu G, Gindulyte A, et al. PubChem Substance and Compound databases. Nucleic Acids Res. 2016;44(D1):1202–13.

[79]     Daina A, Michielin O, Zoete V. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. Sci Rep. 2017;7(1):42717.

[80]     Banerjee P, Eckert AO, Schrey AK, Preissner R. ProTox-II: a webserver for the prediction of toxicity of chemicals. Nucleic Acids Res. 2018 Jul 2;46(W1):W257–63.

[81]     Braga RC, Alves VM, Silva MFB, Muratov E, Fourches D, Lião LM, et al. Pred-hERG: A Novel web-Accessible Computational Tool for Predicting Cardiac Toxicity. Mol Inform. 2015;34(10):698–701.

[82] Schneidman-Duhovny D, Dror O, Inbar Y, Nussinov R, Wolfson HJ. Deterministic pharmacophore detection via multiple flexible alignment of drug-like molecules. J Comput Biol. 2008;15(7):737–54.

[83]     Zhao W, Zhang W, Chen Y, Yang F, Cao Q, Chen W, et al. Identification and purification of novel chlorogenic acids in Artemisia annua L. J Exp Biol Agric Sci. 2015 Oct 20;3(5):415–22.

[84]     Miao M, Xiang L. Pharmacological action and potential targets of chlorogenic acid. In: Advances in Pharmacology. Academic Press Inc.; 2020. p. 71–88.

[85]     Hou N, Liu N, Han J, Yan Y, Li J. Chlorogenic acid induces reactive oxygen species generation and inhibits the viability of human colon cancer cells. Anticancer Drugs. 2017;28(1):59–65.

[86]     Nawaz MH, Ferreira JC, Nedyalkova L, Zhu H, Carrasco-López C, Kirmizialtin S, et al. The catalytic inactivation of the N-half of human hexokinase 2 and structural and biochemical characterization of its mitochondrial conformation. Biosci Rep. 2018;38(1):BSR20171666.

[87]     Xu S, Herschman HR. A tumor agnostic therapeutic strategy for hexokinase 1–null/hexokinase 2–positive cancers. Cancer Res. 2019;79(23):5907–14.

[88]     Salehi B, Venditti A, Sharifi-Rad M, Kręgiel D, Sharifi-Rad J, Durazzo A, et al. The Therapeutic Potential of Apigenin. Int J Mol Sci. 2019 Mar 15;20(6):1305.

[89]     Yan X, Qi M, Li P, Zhan Y, Shao H. Apigenin in cancer therapy: anti-cancer effects and mechanisms of action. Cell Biosci. 2017;7:50.

[90]     Li D, Pan Y, Huang Y, Zhang P, Fang X. PAK5 Induces EMT and Promotes Cell Migration and Invasion by Activating the PI3K/AKT Pathway in Ovarian Cancer. Anal Cell Pathol. 2018 Sep 2;2018:8073124.

[91]     Han K, Zhou Y, Tseng KF, Hu H, Li K, Wang Y, et al. PAK5 overexpression is associated with lung metastasis in osteosarcoma. Oncol Lett. 2018;15(2):2202–10.

[92]     Li Y, Zou J, Ye D, Zeng Y, Chen C, Luo G, et al. Human p21-activated kinase 5 (PAK5) expression and potential mechanisms in relevant cancers: Basic and clinical perspectives for molecular cancer therapeutics. Life Sci. 2020;241:117113.

[93]     Horsfall AJ, Abell AD, Bruning JB. Targeting PCNA with Peptide Mimetics for Therapeutic Purposes. ChemBioChem. 2020;21(4):442–50.

[94]     Crespo-Ortiz MP, Wei MQ. Antitumor Activity of Artemisinin and Its Derivatives: From a Well-Known Antimalarial Agent to a Potential Anticancer Drug. J Biomed Biotechnol. 2012;2012:1–18.

[95]     Singh NP, Panwar VK. Case report of a pituitary macroadenoma treated with artemether. Integr Cancer Ther. 2006;5(4):391–4.

[96]     Yin J, Li Z, Ye L, Birkin E, Li L, Xu R, et al. EphB2 represents an independent prognostic marker in patients with gastric cancer and promotes tumour cell aggressiveness. J Cancer. 2020;11(10):2778–87.

[97]     Dickson MA, Cancer C, Published R, May O. Molecular Pathways : CDK4 Inhibitors for Cancer Therapy. Am Assoc Cancer Res. 2014;20(13):3379–83.

[98]     Hicklin DJ, Ellis LM. Role of the vascular endothelial growth factor pathway in tumor growth and angiogenesis. J Clin Oncol. 2005;23(5):1011–27.

[99]     Pandya NM, Dhalla NS, Santani DD. Angiogenesis-a new target for future therapy. Vascul Pharmacol. 2006;44(5):265–74.

.