

AVALIAÇÃO *IN SÍLICO* DO PERFIL FARMACOLÓGICO DE DERIVADOS ESPIRO-ACRIDÍNICOS DESTINADOS PARA DOENÇA DE ALZHEIMER

Misael de Azevedo Teotônio Cavalcanti ¹
Yasmim Vilarim Barbosa ²
Rayane Cibele da Silva Nascimento ³
Ricardo Olímpio de Moura ⁴

RESUMO

A doença de Alzheimer (DA) consiste em um processo degenerativo de múltiplas funções corticais, como memória, pensamento, compreensão e linguagem, envolvendo degeneração de neurônios colinérgicos. Assim, as enzimas acetilcolinesterase (AChE) e butirilcolinesterase (BChE), que hidrolisam acetilcolina, são alvos importantes para melhoria da qualidade de vida do paciente com DA. O primeiro inibidor de AChE aprovado foi a Tacrina, cujo uso foi abandonado devido à hepatotoxicidade, porém, serve de modelo para desenvolvimento de novos fármacos, como os derivados acridínicos, inibidores dessa enzima. Com isso, esse trabalho teve como objetivo avaliar perfis farmacodinâmico e farmacocinético dos derivados espiro-acridínicos ACMD-01 e AMTAC-01, visando inibição de AChE e BChE para tratamento de Alzheimer. Assim, foram feitas simulações de *docking* com os derivados e as enzimas AChE e BChE, através do *AutoDock Tools*, e análises farmacocinéticas em plataformas *online* e gratuitas. Como resultado, as moléculas demonstraram maior afinidade e potência que a Tacrina, com destaque para o AMTAC-01, bem como realizaram interações com os alvos semelhantes e outras mais fortes que as ligações feitas pela Tacrina. Além disso, ambas obedeceram aos parâmetros de *drug-likeness* e exibiram ótima absorção intestinal, inibição de glicoproteína-P, capacidade de permeação através da barreira hematoencefálica bem como valores apropriados de volume de distribuição e *clearance* renal, apesar de demonstrarem ser substratos e inibidores de algumas enzimas CYP. Portanto, ambos os derivados espiro-acridínicos demonstraram ser compostos promissores para tratamento de doença de Alzheimer, com alta afinidade por alvos relevantes e bom perfil farmacocinético.

Palavras-chave: Derivados Espiro-Acridínicos, Simulação de Acoplamento Molecular, Farmacocinética, *In Silico*, Doença de Alzheimer.

¹ Graduando do Curso de Farmácia da Universidade Estadual da Paraíba - UEPB, misaelazevedo.2015@gmail.com;

² Graduanda pelo Curso de Farmácia da Universidade Estadual da Paraíba - UEPB, yasmimvilarim.b@gmail.com;

³ Graduanda pelo Curso de Farmácia da Universidade Estadual da Paraíba - UEPB, raayanecibelem@gmail.com;

⁴ Doutor pelo Curso de Farmácia da Universidade Estadual da Paraíba - UEPB, ricardo.olimpiodemoura@gmail.com;

A doença de Alzheimer (DA) é caracterizada por um processo degenerativo que acomete múltiplas funções corticais, incluindo memória, pensamento, compreensão e linguagem, sendo que a deficiência das habilidades cognitivas é geralmente acompanhada pela perda de controle emocional, do comportamento social e da motivação. Além disso, envolve também a degeneração de neurônios colinérgicos e a diminuição da transmissão da acetilcolina (MENDES *et al.*, 2016). Em um cérebro normal, a acetilcolina é predominantemente hidrolisada, cerca de 80%, pela acetilcolinesterase (AChE), enquanto a butirilcolinesterase (BChE) desempenha um papel suplementar. No entanto, com a progressão da doença, a atividade da AChE diminui, enquanto a atividade da BChE aumenta gradualmente. Assim, a BChE consiste em um alvo terapêutico adicional para reduzir a deficiência colinérgica.

No que diz respeito à farmacologia da DA, não existem tratamentos que curem, previnam ou mesmo interrompam a progressão da doença. Os fármacos até agora aprovados pela FDA (*Food and Drug Administration*) conferem apenas uma melhoria na qualidade de vida dos portadores da doença e visam estabilizar o comprometimento cognitivo, bem como melhorar o comportamento e a realização das atividades diárias (MOREIRA, *et al.*, 2014). Dentre os tratamentos convencionais, destaca-se a utilização dos inibidores da acetilcolinesterase, que retardam a degradação metabólica da acetilcolina, aumentando sua disponibilidade. Nesse sentido, quatro fármacos estão disponíveis no país: a tacrina, a rivastigmina, a donepezila e a galantamina. Outra classe consiste nos antagonistas dos receptores de *N*-metil-d-aspartato (NMDA), representado pela memantina. Esta regula a atividade do glutamato, que é liberado em grandes quantidades por células danificadas pela doença (PROTÓCOLOS CLÍNICOS E DIRETRIZES TERAPÊUTICAS, 2013).

Nesse sentido, surge a necessidade de novos fármacos, como, por exemplo, os derivados acridínicos, que possuem um amplo espectro de aplicações terapêuticas, incluindo ação anti-Alzheimer, por inibição de AChE e BChE. Dentre os derivados de acridina, destaca-se a tacrina (9-amino-1,2,3,4-tetrahidroacridina), que é um potente inibidor da AChE aprovado pela FDA em 1993 como o primeiro medicamento para tratar a DA, porém, sua administração foi abandonada devido à hepatotoxicidade.

Apesar disso, hoje o uso da tacrina como modelo para o projeto e o desenvolvimento de novos inibidores da AChE com maior potência anticolinesterásica e menos efeitos colaterais tem atraído muita atenção (LOTFI *et al.*, 2020). Com isso, derivados de acridina são pontos de partida ideais para o projeto de novos candidatos para o tratamento da doença de Alzheimer (MAKHAEVA *et al.*, 2017).

A descoberta de novas entidades químicas com atividade biológica pode ser feita, inicialmente, por meio de estudos *in silico*, isto é, utilizando ferramentas computacionais para determinar parâmetros farmacodinâmicos, como potência, afinidade, eficácia e seletividade, bem como propriedades farmacocinéticas, incluindo absorção, distribuição, metabolismo e eliminação. Levando em consideração que podem haver falhas em estágios tardios no desenvolvimento de fármacos e que testes *in vitro* com moléculas demandam alto custo e longo período de tempo, é possível analisar essas propriedades farmacológicas por meio de ferramentas computacionais. Portanto, esse estudo tem como objetivo avaliar o perfil farmacológico de derivados espiro-acridínicos destinados ao tratamento da doença de Alzheimer, por meio de estudos *in silico* (FERREIRA *et al.*, 2016; IBRAHIM DIRAR *et al.*, 2016).

METODOLOGIA

Para analisar o perfil farmacodinâmico, foi feito o *docking* molecular, utilizando o *AutoDock Tools* (ADT) com os alvos AChE (ID: 1ACJ) e BChE (ID: 4BDS), retirados do *Protein Data Bank*, e os derivados (E)-1'-(benzilidenoamino)-5'-oxo-1',5'-dihidro-10H-espiro[acridina-9,2'-pirrol]-4'-carbonitrila (AMTAC-01) e 5'-oxo-1'-fenil-1',5'-dihidro-10H-espiro[acridina-9,2'-pirrol]-4'-carbonitrila (ACMD-01), já sintetizados pelo nosso grupo de pesquisa. Para isso, inicialmente, foi validada a metodologia, por *redocking*, e os alvos foram tratados, pela remoção do ligante co-cristalizado Tacrina e das moléculas de água, com o *PyMol*. Para validação da metodologia, foi selecionada a conformação de menor energia da Tacrina, cujo valor de Desvio Quadrático Médio das Distâncias (RMSD) entre os átomos, avaliado pelo *Discovery Studio*, além de interações com os alvos. Após determinar RMSD menor que 2.0 Å, a metodologia foi validada e foi feito o *docking* dos derivados espiro-acridínicos.

Nesse sentido, os alvos foram carregados no ADT, para serem processados no formato .pdbqt, necessário ao reconhecimento do *software*, adicionando hidrogênios e cargas de Gasteiger, bem como mesclando hidrogênios não polares. Depois, utilizou-se o *AutoGrid* para posicionar as moléculas dentro do sítio ativo dos alvos, nas coordenadas determinadas pelo *Discovery Studio*. Para a enzima AChE, as coordenadas foram 4.648, 70.061 e 65.931 Å, com espaçamento de 0,315 Å e eixos X, Y e Z de dimensões 40 x 40 x 40 Å. Já para a enzima BChE, as coordenadas foram 132.994, 116.014 e 41.214 Å, mantendo as dimensões dos eixos e o espaçamento. Com o sítio ativo localizado, foi feita a simulação do *docking*, com o *AutoDock 4.2*, realizando 100 operações de algoritmo genético Lamarckiano, nos parâmetros padrões do software. Com isso, foram gerados valores de Energia Livre de Ligação (ΔG) e de Constante de Inibição (K_i), sendo salvas as conformações mais estáveis.

Já a análise do perfil farmacocinético foi feita pelas plataformas *online* e gratuitas SwissADME, pkCSM e ADMETlab, para determinar parâmetros de Absorção, Distribuição, Metabolismo e Excreção. Sendo assim, foram preditas propriedades de *Drug-likeness*, Absorção Intestinal, Interação com Glicoproteína-P, Volume de Distribuição, Permeabilidade por Barreira Hematoencefálica, Metabolismo por Citocromo P450 (CYP450) e *Clearance* Renal.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Análise do Perfil Farmacodinâmico

Após a realização do redocking, foi possível visualizar que a Tacrina, em ambos os alvos, exibiu disposições espaciais semelhantes à Tacrina co-cristalizada, bem como suas melhores conformações preditas apresentaram valores de RMSD de 0.5645 Å para a AChE e 0.7455 Å para a BChE, ambos abaixo de 2.0 Å, validando a metodologia. Porém, exibiram algumas diferenças, principalmente entre as ligações sigma, entre carbonos sp^3 , pois estas são mais flexíveis que as ligações pi, entre carbonos sp^2 ou sp . Após validar a metodologia, foi feito o *docking* do ACMD-01 e do AMTAC-01 com as enzimas AChE e BChE, resultando nos seguintes valores de energia livre de ligação (ΔG) e constantes inibitórias estimadas (K_i), presentes na Tabela 1.

Tabela 1: Resultados de *docking* dos compostos avaliados para doença de Alzheimer com as enzimas AChE (PDB ID: 1ACJ) e BChE (PDB ID: 4BDS)

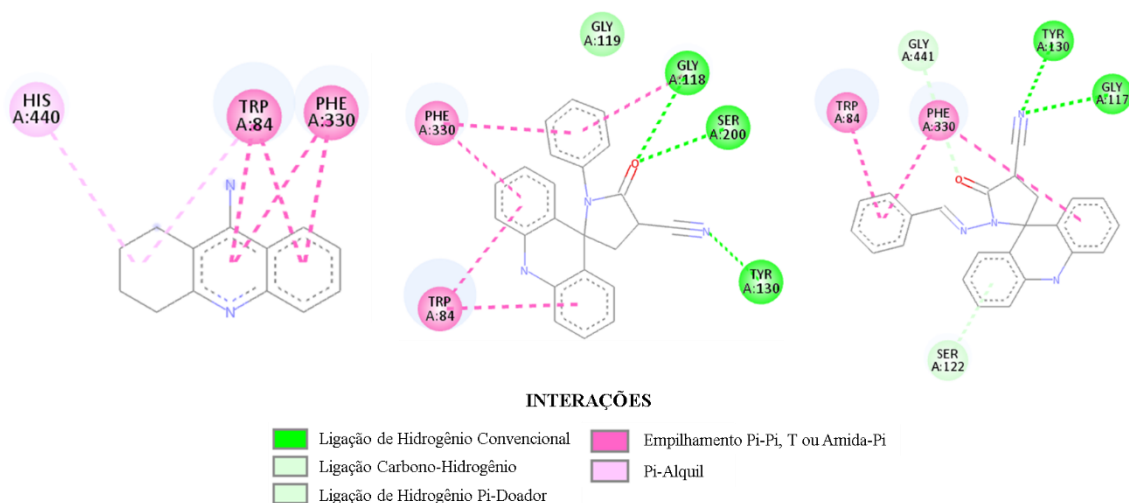
Molécula	AChE		BChE	
	ΔG	Ki	ΔG	Ki
ACMD-01	-10.37	0.2523	-9.25	0.1671
AMTAC-01	-12.08	0.00141	-10.17	0.03503
Tacrina	-8.09	1.18	-6.83	9.86

Legenda: ΔG em kcal/mol e Ki em μM ;

Por meio da tabela anterior, é possível perceber que ambos os compostos, sobretudo o AMTAC-01, demonstraram maior afinidade e potência que a Tacrina, tanto com a AChE quanto com a BChE, uma vez que apresentaram menores valores de energia livre de ligação e constante inibitória. Isso porque valores negativos de ΔG correspondem à maior estabilidade do complexo ligante-receptor, indicando maior afinidade da molécula pelo alvo (DU *et al.*, 2016). Além disso, a constante de inibição é inversamente proporcional à intensidade das ligações de uma molécula por seu alvo e, consequentemente, à sua potência (BURLINGHAM & WIDLANSKI *et al.*, 2003).

Foi possível também analisar as ligações intermoleculares da Tacrina e as interações promovidas pelas moléculas em estudo com os mesmos alvos (Figura 1).

Figura 1: Diagrama 2D das interações da Tacrina (esquerda), do ACMD-01 (centro) e do AMTAC-01 (direita) com a enzima AChE

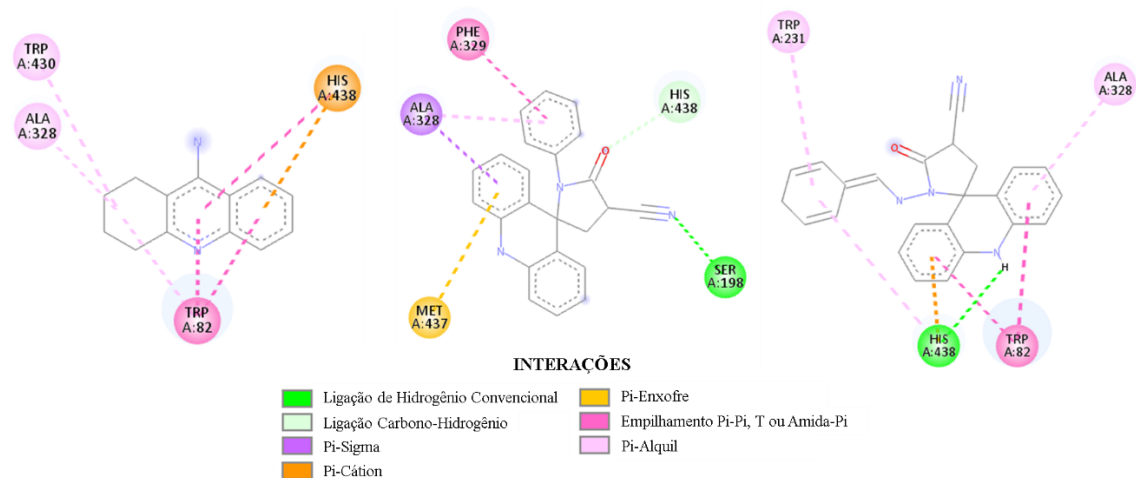


Analisando o diagrama acima, é visível que ambas as moléculas demonstraram maior afinidade pela AChE, em relação à Tacrina, uma vez que exibiram maior número de interações intermoleculares com a enzima e realizaram ligações de hidrogênio convencionais. Estas são muito importantes para vários processos bioquímicos bem como para o desenho de fármacos (WENDLER *et al.*, 2010). Além disso, os derivados exibiram ligações com a maioria dos resíduos de aminoácidos que interagem com a Tacrina, como a Phe330 e o Trp84, que realizam 5 das 6 interações. Isso é indicativo de que ambos se ligam ao mesmo sítio ativo da enzima com o qual a Tacrina interage.

No entanto, o AMTAC-01 exibiu maior afinidade de ligação que o ACMD-01, o que pode ser explicado por seu tamanho, tendo em vista que moléculas maiores tendem a apresentar melhor complementariedade e, conseqüentemente, demonstrar menor energia livre de ligação, enquanto que menores moléculas exibem mais flexibilidade dentro do alvo e, possivelmente, apresentam menor encaixe e, por isso, maior energia livre de ligação. Porém, em relação ao número de interações, o ACMD-01 demonstrou realizar três ligações de hidrogênio, enquanto que o AMTAC-01 exibiu apenas duas.

Com a enzima BChE, também é possível determinar que o AMTAC-01 exibiu maior afinidade pelo alvo em relação ao ACMD-01, o que pode ser explicado pela presença de mais ligações intermoleculares entre o AMTAC-01 e o alvo (Figura 2) bem como seu tamanho, visto que moléculas maiores podem apresentar melhor encaixe com o alvo, embora o ACMD-01 tenha demonstrado ligações mais diversificadas, como Carbono-Hidrogênio, Pi-Enxofre e Pi-Sigma, além de interações hidrofóbicas de empilhamento Pi-Pi e Pi-Alquil, também feitas pelo AMTAC-01. Outra razão para isso é a menor distância da ligação de hidrogênio com a His438, de 2.03 Å, em relação à interação de hidrogênio entre o ACMD-01 e a Ser198, com distância de 2.13 Å.

Figura 2: Diagrama 2D das interações da Tacrina (esquerda), do ACMD-01 (centro) e do AMTAC-01 (direita) com a enzima BChE



Além disso, ambas as moléculas demonstraram maior afinidade que a própria Tacrina, uma vez que esta não realizou ligações de hidrogênio, interações bastante relevantes para o desenvolvimento de fármacos e por apresentarem um amplo espectro de intensidade, como mencionado anteriormente. Ademais, ambos os derivados acridínicos interagiram com resíduos de aminoácidos que também compartilham interações com a Tacrina, como a His438, o Trp82 e a Ala328, demonstrando que conseguem se ligar ao sítio ativo da BChE, assim como a Tacrina.

No entanto, o ACMD-01 exibiu menor afinidade pelo alvo, em relação ao AMTAC-01, visto que o primeiro foi planejado através de uma simplificação molecular do segundo. Assim, a remoção do grupo imina presente no AMTAC-01, para a produção do ACMD-01, foi, provavelmente, responsável pela redução da afinidade deste pelo alvo, uma vez que houve diminuição no tamanho da molécula e isso, conseqüentemente, afetou sua complementariedade com a enzima.

Análise do Perfil Farmacocinético

O planejamento e a descoberta de *hits*, bem como sua otimização a *leads* e, posteriormente, a candidatos a fármacos envolve o estudo e a análise de propriedades de *drug-likeness* das moléculas, ou seja, propriedades físico-químicas e biológicas que as tornem o mais semelhante possível aos fármacos disponíveis comercialmente. Nesse sentido, para obter bons perfis farmacodinâmico e farmacocinético, são avaliadas

propriedades como lipofilicidade, polaridade, tamanho, solubilidade, estabilidade metabólica, inibição de CYP450, entre outras (VISTOLI *et al.*, 2008).

Na descoberta de fármacos, propriedades de *drug-likeness* são avaliadas, em estágios iniciais e por meio de estudos *in silico*, na determinação do perfil farmacocinético do composto em estudo. Algumas dessas propriedades consistem em aspectos estruturais e parâmetros físico-químicos que permitem um comportamento adequado da molécula no organismo humano, como absorção, distribuição e excreção. Nesse sentido, destacam-se as regras dos cinco de Lipinski, parâmetros associados à boa biodisponibilidade oral e que consistem em: máximo de 5 doadores e 10 aceptores de ligação de hidrogênio; peso molecular máximo de 500 g/mol; e coeficiente de partição (MLogP) menor ou igual a 4.15 (VISTOLI *et al.*, 2008; LIPINSKI *et al.*, 1997).

Analisando as propriedades das moléculas em estudo, não foi violada nenhuma das regras de Lipinski, demonstrando que são promissoras para absorção por via oral. Para comprovar isso, foram preditos valores acima de 90% de absorção intestinal tanto para o ACMD-01 como para o AMTAC-01, como pode ser visualizado na Tabela 2.

Tabela 2: Parâmetros de Absorção e Distribuição para os Derivados Espiro-Acridínicos

Moléculas	Absorção Intestinal	Substrato de PGP	Inibidor de PGP	V_D	BHE
ACMD-01	96.75%	Não	Sim	0.478 L/kg	Sim
AMTAC-01	93.67%	Não	Sim	0.482 L/kg	Sim

Legenda: PGP: Glicoproteína-P, V_D : Volume de Distribuição, BHE: Permeação Através da Barreira Hematoencefálica;

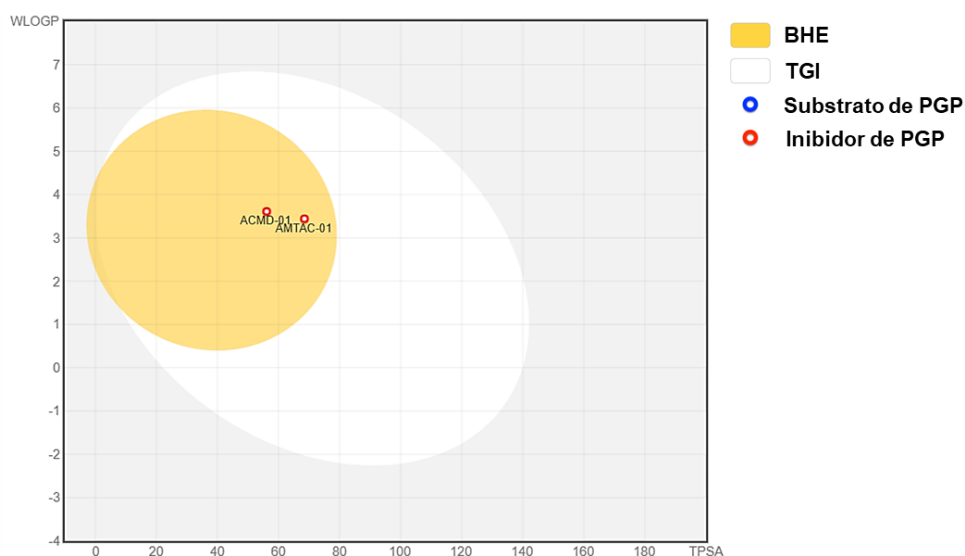
Além disso, a análise da tabela anterior permite identificar também que as moléculas não demonstraram ser substratos, mas sim inibidoras da glicoproteína-P, uma proteína transportadora do tipo bomba de efluxo ATP-dependente, que é superexpressa, sobretudo, em células tumorais e que, ao hidrolisar ATP, expulsa moléculas dessas células, promovendo resistência a quimioterápicos (YIN & WANG, 2016).

A tabela também apresenta o volume de distribuição (V_D) das moléculas, cujos valores apresentaram-se dentro da faixa adequada, de 0.04 a 20 L/kg. Esta é uma propriedade biológica importante que quantifica a distribuição de uma substância no organismo humano (XIONG *et al.*, 2021) e fármacos que possuem maior concentração

plasmática, geralmente, apresentam baixo volume de distribuição, exigindo maior dose para promoverem sua atividade.

Ademais, as moléculas demonstraram atravessar a barreira hematoencefálica (BHE), como pode ser visualizado no gráfico BOILED-Egg abaixo, cuja área de cor amarela determina capacidade de permeação através da BHE, propriedade desejável, tendo em vista que as moléculas estão sendo avaliadas para tratamento de DA, necessitando de transporte para o sistema nervoso central, para que possam interagir com as enzimas AChE e BChE, na biofase. O gráfico mostra, também, uma área branca, que determina a capacidade das moléculas em sofrer absorção intestinal, e a coloração vermelha da molécula, mostrando sua atividade inibitória da PGP, o que comprova os dados de absorção apresentados anteriormente.

Figura 3: Gráfico BOILED-Egg dos Derivados Espiro-Acridínicos



Fonte: Adaptado de SwissADME (2021)

Já em relação ao metabolismo por CYP450, sabe-se que os substratos são fármacos sobre os quais a isoenzima CYP específica atua, enquanto que os inibidores diminuem sua atividade enzimática. Estes competem com outros fármacos, geralmente substratos, pelos sítios ativos da enzima e, conseqüentemente, modificam os níveis plasmáticos da droga que é substrato, alterando sua farmacocinética e potencialmente elevando suas concentrações a níveis tóxicos (FATUNDE & BROWN, 2020). Nesse sentido, as moléculas demonstraram ser substratos ou inibidoras de algumas isoenzimas, podendo interagir com outros medicamentos, seja aumentando os níveis plasmáticos de outro fármaco, seja sofrendo aumento de sua concentração.

Tabela 3: Interação das moléculas com as isoenzimas que integram o CYP450

Molécula	CYP1A2		CYP2C19		CYP2C9		CYP2D6		CYP3A4	
	I _B	S	I _B	S	I _B	S	I _B	S	I _B	S
ACMD-01	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Não	Não	Sim	Sim
AMTAC-01	Sim	Não	Sim	Sim	Sim	Sim	Não	Não	Sim	Sim

Por fim, quanto à eliminação, o *clearance* renal quantifica a remoção irreversível de um medicamento do plasma para fora do corpo, ao medir o volume de sangue do qual o fármaco é completamente eliminado em um determinado tempo. A depuração renal é um parâmetro bastante importante para o desenvolvimento de fármacos, uma vez que é determinante para todos os outros parâmetros farmacocinéticos relevantes, como tempo de meia-vida, biodisponibilidade oral e dose efetiva. Assim, busca-se reduzir a taxa de *clearance* renal e manter o volume de distribuição, para aumentar a meia-vida do fármaco, permitindo que haja uma boa biodisponibilidade e, a partir daí, uma dose eficaz na biofase (SMITH *et al.*, 2019). Logo, visto que o ACMD-01 e o AMTAC-01 exibiram baixos valores de *clearance* renal, de 2.592 e 5.298 mL/min/kg, respectivamente, ambos têm boa probabilidade de atingir doses eficazes no organismo.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Portanto, os derivados espiro-acridínicos ACMD-01 e AMTAC-01 apresentaram, em estudos *in silico*, alta afinidade e potência por enzimas relevantes para a doença de Alzheimer, quando comparados à Tacrina, bem como exibiram adequadas propriedades farmacocinéticas, incluindo permeação através da BHE. Dessa forma, essas moléculas demonstraram ser promissoras para o tratamento de Alzheimer, sobretudo o AMTAC-01, tornando possível a realização futura de ensaios *in vitro* de inibição enzimática, para a continuação do desenvolvimento desses compostos.

REFERÊNCIAS

BURLINGHAM, B. T., WIDLANSKI, T. S. **An Intuitive Look at the Relationship of K_i and IC_{50} : A More General Use for the Dixon Plot.** Journal of Chemical Education, 2003.

DU, X., LI, Y., XIA, Y.-L., et al. **Insights into Protein-Ligand Interactions: Mechanisms, Models, and Methods.** International Journal of Molecular Sciences, 2016.

FATUNDE, O. A., BROWN, S. A. **The Role of CYP450 Drug Metabolism in Precision Cardio-Oncology.** In International Journal of Molecular Sciences, v.21, n.2, 2020.

FERREIRA, L. G., DOS SANTOS, R. N., OLIVA, G., & ANDRICOPULO, A. D. **Molecular Docking and Structure-Based Drug Design Strategies.** In Molecules, v.20, n.7, 2015.

IBRAHIM DIRAR, A., WADDAD, A., MOHAMED, M., MOHAMED, M., OSMAN, W., SALIH, M., ELBADAWI, M., & HAMDOUN, S. **In silico pharmacokinetics and molecular docking of three leads isolated from *Tarconanthus camphoratus* L.** International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, v.8, p.71–77, 2016.

LIPINSKI, C. A., LOMBARDO, F., DOMINY, B. W., & FEENEY, P. J. **Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings.** Advanced Drug Delivery Reviews, 1997.

LOTFI, S.; RAHMANI, T.; HATAMI, M.; et al. **Design, synthesis and biological assessment of acridine derivatives containing 1,3,4-thiadiazole moiety as novel selective acetylcholinesterase inhibitors.** Bioorganic Chemistry, v.105, December 2020.

MENDES, C. F. M.; SANTOS, A. L. S. **Cuidado na doença de Alzheimer: As representações sociais dos cuidadores familiares.** Saúde Soc. São Paulo, v.25, n.1, p.121-132, 2016.

MOREIRA, P. A.; STEFANI, F. Y. **Tratamento farmacológico da doença de Alzheimer.** Centro de Pós-Graduação Oswaldo Cruz. Revista Acadêmica Oswaldo Cruz, ano 1, n.2 abril-junho 2014, ISSN 2357-8173.

PROTOSCOLOS CLÍNICOS E DIRETRIZES TERAPÊUTICAS. **Doença de Alzheimer.** Portaria SAS/MS nº 1.298, de 21 de novembro de 2013.

SMITH, D. A., BEAUMONT, K., MAURER, T. S., & DI, L. **Clearance in Drug Design.** Journal of Medicinal Chemistry, v.62, n.5, p.2245–2255, 2019.

VISTOLI, G., PEDRETTI, A., TESTA, B. **Assessing drug-likeness – what are we missing?** Drug Discovery Today, v.13, n.7–8, p.285–294, 2008.

WENDLER, K., THAR, J., ZAHN, S., et al. **Estimating the Hydrogen Bond Energy.** The Journal of Physical Chemistry A, v.114, n.35, p.9529–9536, 2010.

XIONG, G., WU, Z., YI, J., et al. **ADMETlab 2.0: an integrated online platform for accurate and comprehensive predictions of ADMET properties.** Nucleic Acids Research, v.49, n.W1, p.W5–W14, 2021.

YIN, J., WANG, J. **Renal drug transporters and their significance in drug–drug interactions.** Acta Pharmaceutica Sinica B, v.6, n.5, p.363–373, 2016.