

**Análise farmacocinética, toxicológica e farmacodinâmica in silico do flavonoide quercetina isolado das sementes de *Bixa orellana* l.**

**Pharmacokinetic, toxicological and pharmacodynamic analysis of flavonoid quercetin isolated seeds of *Bixa orellana* l.**

**Análisis farmacocinético, toxicológico y farmacodinámico de semillas aisladas de quercetina flavonoide de *Bixa orellana* l.**

Recebido: 27/11/2019 | Revisado: 27/11/2019 | Aceito: 07/02/2020 | Publicado: 04/03/2020

**Maria Camila Leal de Moura**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2779-1530>

Centro Universitário Santo Agostinho, Brasil

E-mail: [camilaleal.97.08@gmail.com](mailto:camilaleal.97.08@gmail.com)

**Verônica Lorranny Lima Araújo**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2252-5516>

Centro Universitário Santo Agostinho, Brasil

E-mail: [veronica.dks@hotmail.com](mailto:veronica.dks@hotmail.com)

**Joubert Aires de Sousa**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3830-4988>

Universidade Luterana do Brasil, Brasil

E-mail: [airesjoubert3@gmail.com](mailto:airesjoubert3@gmail.com)

## **Resumo**

O presente estudo objetivou analisar in silico as propriedades farmacocinéticas e toxicológicas do flavonoide quercetina isolado das sementes de *Bixa orellana* para observar a viabilidade desse metabólito como candidato a fármaco no tratamento das dislipidemias. E, ainda, avaliar a farmacodinâmica por meio de docking molecular na HMG-CoA redutase o comparando com o fármaco de referência sinvastatina e propondo o seu possível mecanismo de ação. Para a análise farmacocinética e toxicológica, utilizou-se o servidor online PreADMET realizando as predições tendo como base a relação estrutura-atividade das moléculas. A análise farmacodinâmica foi realizada por meio de docking computacional utilizando o software AutoDock Vina para obter as estruturas moleculares e a energia de ligação do complexo alvo-ligante. Conforme as análises dos resultados ADME, a quercetina apresentou dados farmacocinéticos e toxicológicos bem próximos aos da sinvastatina. O

docking molecular indicou o valor da energia de ligação da pose mais estável para o flavonoide e o alvo sendo de  $-8,8$  kcal/mol enquanto que com sinvastatina apresentou uma energia de  $-6.6$  kcal/mol, evidenciando que a quercetina liga-se com maior estabilidade com o sítio ativo do que o fármaco comercial. A variação de afinidade entre os dois ligantes foi estatisticamente significativa com  $P < 0,0001$  indicando o complexo quercetina-HMG-CoA redutase como estatisticamente mais estável. Sugere-se que sejam feitos estudos *in vitro* a fim de confirmar a capacidade de inibição da HMG-CoA redutase para compreensão do desenvolvimento do seu efeito hipolipidêmico.

**Palavras-chave:** Quercetina; Análise farmacocinética e toxicológica; Docking molecular.

### Abstract

The present study aimed to analyze *in silico* the pharmacokinetic and toxicological properties of quercetin flavonoid isolated from *Bixa orellana* seeds in order to observe the feasibility of this metabolite as a candidate for non-treatment of dyslipidemia. In addition, to endorse pharmacodynamics by means of molecular docking at HMG-CoA be reduced or by comparing as a reference drug simvastatin and proposed or according to its mechanism of ação. For a pharmacokinetic and toxicological analysis, use the PreADMET online server and perform the predições as a basis for the structure and activity of molecules. A pharmacodynamic analysis was carried out by means of computational docking using AutoDock Vina software to obtain molecular structures and energy from target-ligand complexation. According to two ADME results, a quercetin shows pharmacokinetic and toxicological results next to simvastatin. Either molecular docking indicou or energy value of binding of the most stable pose to the flavonoid and the target being  $-8.8$  kcal / mol while that with simvastatin presented the energy of  $-6.6$  kcal / mol, evidencing that quercetin binds more stabilization of the active agent or commercial drug. A variation of the relationship between the two statistically significant binders with  $P < 0.0001$  indicating or complex quercetin-HMG-CoA was reduced as statistically more stable. I suggest that you check *in vitro* studies in order to confirm the ability to open HMG-CoA in order to understand the hypolipidemic effect.

**Keywords:** Quercetine; Pharmacokinetic and Toxicological Analysis; Docking Molecular.

### Resumen

El presente estudio tuvo como objetivo analizar *in silico* las propiedades farmacocinéticas y toxicológicas del flavonoide quercetina aislado de semillas de *Bixa orellana* para observar la

viabilidad de este metabolito como candidato para el no tratamiento de la dislipidemia. Además, para respaldar la farmacodinámica por medio del acoplamiento molecular en HMG-CoA, reduzca o compare como simvastatina como fármaco de referencia y proponga o según su mecanismo de acción. Para un análisis farmacocinético y toxicológico, use el servidor en línea PreADMET y realice las predicciones como base para la estructura y actividad de las moléculas. Se realizó un análisis farmacodinámico mediante acoplamiento computacional utilizando el software AutoDock Vina para obtener estructuras moleculares y energía a partir de la complejación del ligando objetivo. Según dos resultados de ADME, una quercetina muestra resultados farmacocinéticos y toxicológicos, muy próximos a la simvastatina. Ya sea el acoplamiento molecular indicado o el valor de energía de la unión de pose más estable para el flavonoide y el objetivo es  $-8.8$  kcal / mol, mientras que con simvastatina presentó la energía de  $-6.6$  kcal / mol, lo que evidencia que una quercetina se une más a la estabilización del activo agente o droga comercial. Una variación de la relación entre los dos aglutinantes estadísticamente significativos con  $P < 0,0001$  indicativo o complejo de quercetina-HMG-CoA se redujo como estadísticamente más estable. Le sugiero que revise los estudios in vitro para confirmar la capacidad de abrir HMG-CoA para comprender el efecto hipolipidémico.

**Palabras clave:** Quercetina; Análisis farmacocinético y toxicológico; Acoplamiento Molecular.

## 1. Introdução

As doenças cardiovasculares (DCV) constituem a principal causa de mortalidade no mundo especialmente em países de baixa e média renda e, em 2030 cerca de 20 milhões de pessoas morrerão em consequências dessas, sendo atualmente responsáveis por 30% das mortes globais, taxa praticamente idêntica à encontrada no Brasil. No ano de 2012, as doenças do aparelho circulatório foram responsáveis pela segunda maior taxa de mortalidade, em internações pelo SUS no país (Lotufo, 2015; Pereira, Sichieri, Segri, Silva & Ferreira, 2015; Siqueira, Siqueira-Filho, & Land, 2017).

A aterosclerose destaca-se como uma das principais alterações envolvida nas desordens cardiovasculares, primariamente relacionada ao acúmulo subendotelial de elementos fibrosos e lipídios em artérias de grande e médio porte e sendo caracterizada pelo aumento do colesterol (hipercolesterolemia) e dos triglicerídeos (hipertrigliceridemia). Através dos anos, tem sido exposto que o excesso da lipoproteína de baixa densidade (*Low Density Lipoprotein - LDL*) conjuntamente com modificações peroxidativas na partícula de

LDL estão altamente relacionadas a um significativo fator nas mudanças ateroscleróticas que é frequentemente assintomática por várias décadas até a ocorrência de distúrbios cardiovasculares graves, como derrame ou ataque cardíaco (Ribeiro, Cotta & Ribeiro, 2012; Bale, Doneen & Vigerust, 2017).

O tratamento farmacológico para hipercolesterolemias (concentração sérica > 200 md/dL) consiste principalmente na utilização de estatinas ou inibidores da HMG-CoA redutase, resinas, ezetimiba e fibratos, ácido nicotínico e ômega 3. No entanto, o tratamento farmacológico por esses grupos de medicamentos apresenta efeitos colaterais como miopatia (estatinas), constipação e aumento dos triglicerídeos em pacientes com hipertrigliceridemia acentuada (resinas), problemas renais, alterações hepáticas, entre outros, levando conseqüentemente à falta de adesão pelo paciente e conseqüente ineficácia do tratamento (Baigent et al., 2010; Iqbal et al., 2015; Comin et al., 2017).

Atualmente o uso de plantas e seus derivados com finalidades terapêuticas têm ocorrido de forma extensiva e crescente em todo o mundo, conforme evidenciou-se que as mesmas possuem importantes compostos bioativos e extratos com promissoras atividades biológicas. Desse modo, torna-se inegável a contribuição das plantas como alternativas terapêuticas no tratamento de enfermidades. Nesse contexto, estudos vêm demonstrando que alguns fitoquímicos de plantas medicinais tradicionais através da modulação da expressão de genes relacionados ao metabolismo de lipídios e lipoproteínas possuem efeitos hipolipidêmicos reduzindo efetivamente o perfil lipoproteico aterogênico em pessoas com aterosclerose diminuindo o desenvolvimento e/ou progressão das doenças cardiovasculares (Souza, Mello, & Lopes, 2011; Kuppusamy, Yusoff, Parine, & Govindan, 2015; Xu et al., 2017).

A região Nordeste do Brasil possui em seu bioma, a Caatinga uma ampla multiplicidade de plantas medicinais conhecidas e amplamente utilizadas pela população regional, incluindo a *Bixa orellana L.*(urucum). O urucuzeiro apresenta sementes com fonte rica de pigmentos vermelhos e inúmeras são as propriedades atribuídas à planta que sob o viés da etnofarmacologia são amplamente exploradas pela medicina tradicional/popular das quais são mencionados as ações: anti-inflamatória, antiasmática, antibacteriana, antidiabética, anticonvulsivante, hepatoprotetora, antifúngica e antioxidante com ênfase no manejo terapêutico da aterosclerose e redução do colesterol (Pizziolo, Brasileiro, Oliveira, & Nagem, 2011; Victor et al., 2011; Vilar et al., 2014; Silva, Bizerra, & Fernandes, 2018; Pillai, Soni, & Dhulap, 2019).

Inúmeros são os compostos naturais com potencial terapêutico presentes no urucum,

entre eles destacam-se: saponinas, taninos, alcaloides, esteroides, polifenóis, tocotrienóis e tocoferóis (vitamina E), alguns aminoácidos e flavonoides. Os flavonoides possuem uma gama de propriedades biológicas, e por isso são de considerável interesse científico, particularmente no desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas efetivas, visto que estudos *in vivo* tem comprovado extensivamente atividade biológicas, incluindo propriedades hipolipidêmicas. Dentre esses compostos, incluem-se na composição fitoquímica no arilo das sementes do urucum: quercetina, apigenina, bixeina, crocetina, bixol, narigenina, ácido elágico, iswarane, ácido salicílico, rutina, treonina, ácido tomentósico, triptofano e fenilalanina (Silva, 2013; Mesquita, Teixeira, & Servulo, 2017; Silva, Bizerra, & Fernandes, 2018).

Em vista disso, a quercetina, presente nas sementes da *Bixa orellana*, (3,5,7,3',4'-pentahidroxi-flavona) têm sido alvo de estudos por impedir o dano oxidativo e morte celular por meio da espécies reativas de oxigênio (ERO) agindo consequentemente na proteção da contra-peroxidação lipídica e interrompendo a reação em cadeia de formação de radicais livres (quelando os íons metálicos para formação de complexos inertes que não participarão da conversão de radicais superóxido e peróxido de hidrogênio em radicais hidroxila). Além disso, a quercetina inibe as enzimas ciclo-oxigenase e lipo-oxigenase promovendo redução da produção dos mediadores inflamatórios prostaglandinas e leucotrienos (Xu et al., 2017; Xue et al., 2017; Xu, Hu, Wang, & Cui, 2019).

Paralelamente a isso, em estudos *in vivo* como o desenvolvido por Parvin, Yaghmaei, Nouredini, Haeri Roohani e Aminzadeh (2019) concluíram que a quercetina na complicação da aterosclerose em ratos machos *wistar* pode diminuir os lipídios séricos, fatores de estresse oxidativo e contração da aorta por impedir a formação de placas melhorando a estrutura vascular. Da mesma forma, o estudo de Lima, Oliveira, Nagem e Pacheco (2010) avaliou os possíveis efeitos da bixina, norbixina e a quercetina no metabolismo lipídico de coelhos tendo como resultados os efeitos na redução dos triacilgliceróis, assim como manutenção dos níveis de HDL. Soma-se, ainda, que segundo Xue et al. (2017) a substância isolada inibe a inflamação induzida por lipossacarídeo e a deposição lipídica induzida por LDL demonstrando, efetivamente, sua possibilidade na prevenção e tratamento da aterosclerose.

Nessa perspectiva, a avaliação *in silico* das propriedades dos flavonoides, caso da quercetina, representa um progresso no desenvolvimento de novos fármacos, posto que esse método possibilita uma triagem da viabilidade da molécula e consequentemente se diminuí as tentativas de testes *in vitro* e *in vivo* em laboratório corroborando com um mais rápido processo de descoberta de fármacos com uma redução de recursos físicos e da utilização de

cobaias em experimentos (Šmelcerović et al., 2017; Sosa, Sosa, Phansalkar, &, Stiglitz, 2017).

Mediante o exposto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar *in silico* as propriedades farmacodinâmicas do flavonoide quercetina isolado das sementes de *Bixa orellana* propondo um possível mecanismo de ação para justificar o seu efeito na redução do colesterol além da avaliação dos seus parâmetros farmacocinéticos e toxicológicos com a finalidade de observar a viabilidade do uso deste metabolito secundário como fármaco para o tratamento das dislipidemias.

## 2. Metodologia

O presente trabalho é tido como uma pesquisa experimental, com abordagem qualitativa e explicativa que se baseia nas análises das características farmacocinéticas, farmacodinâmicas e toxicológicas do flavonoide quercetina e do fármaco de referência sinvastatina, por meio da utilização de ferramentas *in silico* e softwares de Química Farmacêutica Medicinal disponíveis na plataforma web, rodando tanto via local quanto via desktop. Para o aprimoramento das análises dos resultados, possíveis hipóteses e justificativas, fez-se um levantamento bibliográfico por meio de bases de dados como Literatura Latino Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS), Portal de Pesquisa da BVS, Scientific Electronic Library Online (SciELO) e PubMed (National Library of Medicine and National Institute of Health - USA) com delimitação de período entre 2008 a 2018, utilizando-se dos Descritores em Ciência da Saúde (DECs): quercetina, docking molecular e dislipidemias.

A princípio, por meio da utilização do software ACD/ChemSkech versão 14.0 desenvolvido pela ACD/Labs, de maneira prévia, realizou-se o desenho das estruturas moleculares do flavonoide quercetina e do fármaco sinvastatina que foi usado como parâmetro de comparação em todas as análises. Em seguida foi realizada a otimização estrutural destas moléculas segundo parâmetros da mecânica clássica (ângulo, ângulo diedro e distância de ligação), para tornar os resultados obtidos com as análises posteriores mais próximos da realidade. Após a realização da otimização estrutural as moléculas foram salvas em formato (.mol) para que pudessem ser utilizadas nas análises posteriores.

Para a análise farmacocinética e toxicológica, importou-se o código fonte das moléculas otimizadas para o servidor online PreADMET (ADMET, na sigla em inglês para

*absortion, distribution, metabolismo, excretion and toxicity*) que foi desenvolvido pelo Cento de Pesquisa em Bioinformática e Design Molecular na Coréia do Sul (Bioinformatics & Molecular Design Research Center). Essa ferramenta é capaz de realizar predições do ponto de vista farmacocinéticos e toxicológicos tendo como base a relação estrutura-atividade de moléculas e fragmentos já avaliados, que se encontram disponíveis em diversos bancos de dados mundiais. Do ponto de vista farmacocinético é possível realizar análises das vertentes principais (absorção, distribuição, metabolização e excreção), já na parte de avaliação toxicológica realizou-se predições de diversos parâmetros como (mutagenicidade, carcinogenicidade e risco cardíaco). Os resultados obtidos foram expressados em tabela.

A análise farmacodinâmica foi realizada por meio de docking computacional utilizando o software AutoDock Vina que é um programa de código livre para a realização de acoplamento molecular e *virtual screening* (rastreo virtual) desenvolvido pelo Oleg Trott do “*Molecular Graphics Lab*” no “*The Scripps Research Institute*” com o intuito de obter as estruturas moleculares e a energia de ligação do complexo alvo-ligante.

Previamente à análise de docking, adquiriu-se a enzima HMG-CoA redutase do Protein Data Bank (PDB) e realizou-se a preparação previa desse alvo molecular no software BIOVIA Discovery Studio 2017, onde foi possível remover moléculas de agua e outros fragmentos moleculares presente no alvo, além de remover o ligante que já estava atracado ao sitio ativo da enzima, após esta preparação o alvo foi salvo em formato (.pdb). Posteriormente, importou-se os ligantes para esse mesmo software para que pudessem ser também salvos em formato (.pdb).

Antes da realização do docking utilizou-se o software AutoDockTools-1.5.6 para finalizar a preparação de ligantes e alvo. Inicialmente importou-se os ligantes (um por vez), para que fossem detectados os centros rotativos da molécula e definidos como rígidos e adicionar também hidrogênios polares, em seguida o ligante foi salvo em formato (.pdbqt) que é o formato de entrada do AutoDock Vina. À molécula de HMG-CoA redutase foram inseridos hidrogênios polares e removidos os não polares e então a enzima foi salva também em formato (.pdbqt). Finalmente definiu-se o tamanho do grid de ancoragem em 34 pontos em X, 34 pontos em Y e 34 pontos em Z em um espaço de 1 Å. As coordenadas do plano foram definidas considerando o como centro o local da molécula que estava ocupado pelo ligante que foi cristalizado junto com a enzima.

As mesmas coordenadas de grid para ancoragem de quercetina e sinvastatina foram utilizadas no alvo. Os valores obtidos no AutoDockTools foram utilizados na criação do



arquivo de configuração do AutoDock Vina e o parâmetro de exaustividade foi fixado em 9. Para finalizar realizou-se o docking de quercetina e sinvastatina no sítio ativo da enzima HMG-CoA redutase para que se pudesse comparar a afinidade das interações formadas entre quercetina e o alvo em relação à afinidade de interação de sinvastatina, um fármaco mundialmente utilizado para o tratamento de dislipidemia e com comprovada atividade inibitória desta enzima. A comparação entre a afinidade de interação de quercetina e sinvastatina com o alvo foi realizada pelo software GraphPad Prism versão 7 através do Teste T e os resultados foram expressos em gráfico como média e desvio padrão.

### 3. Resultados e Discussão

#### Análise farmacocinética e toxicológica

A avaliação biofarmacêutica dos NCEs por meio da aplicação ADMET consolidou-se como de caráter fundamental para o conjunto de processos determinantes tanto da biodisponibilidade de um NCE quanto dos inúmeros fatores que alteram criticamente as suas propriedades farmacocinéticas e toxicológicas (ligação as proteínas plasmáticas, inibição das enzimas do citocromo P450 (CYP), mutagenicidade, carcinogenicidade, dentre outros parâmetros) tornando possível se delinear o perfil da interação entre macro e micromolécula (enzima e ligante). Para esse fim, o resultado da aplicação no presente estudo demonstrou as predições farmacocinéticas (Tabela 1) e toxicológicas (Tabela 2) das estruturas moleculares da quercetina e da sinvastatina em comparativo.

**Tabela 1.** Parâmetros ADME de quercetina e sinvastatina.

QUERCETINA		SINVASTATINA	
BBB	0,3736	BBB	10,2681
Buffer_solubility_mg_L	32,8388	Buffer_solubility_mg_L	41,5266
Caco2	13,2434	Caco2	48,8521
CYP_2C19_inhibition	Inhibitor	CYP_2C19_inhibition	Inhibitor
CYP_2C9_inhibition	Inhibitor	CYP_2C9_inhibition	Inhibitor
CYP_2D6_inhibition	Non	CYP_2D6_inhibition	Non
CYP_2D6_substrate	Non	CYP_2D6_substrate	Non



<b>CYP_3A4_inhibition</b>	Inhibitor	CYP_3A4_inhibition	Inhibitor
<b>CYP_3A4_substrate</b>	Weakly	CYP_3A4_substrate	Substrate
<b>HIA</b>	79,174008	HIA	97,597589
<b>MDCK</b>	133,011	MDCK	0.0550154
<b>Pgp_inhibition</b>	Non	Pgp_inhibition	Inhibitor
<b>Plasma_Protein_Binding</b>	97,484393	Plasma_Protein_Binding	99,9
<b>Pure_water_solubility_mg_L</b>	199,176	Pure_water_solubility_mg_L	0.0241622
<b>Skin_Permeability</b>	-4,21157	Skin_Permeability	-1,04701
<b>SKlogD_value</b>	1,96586	SKlogD_value	6,51858
<b>SKlogP_value</b>	1,96586	SKlogP_value	6,51858
<b>SKlogS_buffer</b>	-3,96112	SKlogS_buffer	-4,01378
<b>SKlogS_pure</b>	-3,17827	SKlogS_pure	-7,24897

Fonte: PREADMET, 2019.

A Tabela 1 refere-se as predições farmacocinéticas das substâncias quercetina e sinvastatina. Assim, o primeiro parâmetro que convém destacar trata-se do valor de PPB (*Plasma Protein Binding* que em tradução significa ligação às proteínas plasmáticas) constitui uma propriedade farmacocinética de grande importância e determinante no planejamento de novos fármacos. A extensão da ligação às proteínas plasmáticas está diretamente relacionada a biodisponibilidade dos fármacos na circulação sanguínea, afetando a magnitude da ação farmacológica, ou seja, o efeito terapêutico e também a depuração dos fármacos para a sua eliminação do organismo. Acrescente-se, ainda, que o complexo fármaco-proteína age como um reservatório na corrente sanguínea, retardando a chegada de fármacos aos sítios de eliminação e disponibilizando-os nos locais de ação quando se faz necessário (Jónsdóttir, Jørgensen, & Brunak, 2005; Norinder & Bergström, 2006; Engel & Gasteiger; Yan, 2018).

E, ao considerar essa perspectiva, convém destacar quando a ligação a proteína é dita forte (fração livre < 0,1) pode ocorrer um aumento na intensidade máxima de ação, alterando assim sua resposta clínica. Em contrapartida, quando há ligação a proteína dita fraca pode ocorrer um aumento na intensidade de ação do fármaco. Em síntese, quaisquer fármacos que apresentam um valor de PPB > 90% possuem baixa toxidez por não ultrapassarem os índices

de faixa terapêutica (Moda, 2011; Effinger, O'Driscoll, McAllister, & Fotaki, 2018; Engel & Gasteigner, 2018; Yan, 2018). No que concerne a ligação às proteínas plasmáticas, a quercetina apresentou perfil de ligação de 97,48%, um valor que se encontra dentro dos padrões considerados desejáveis e semelhante ao observado na análise de sinvastatina, fármaco de referência, já testado e aprovado em testes pré-clínicos e clínicos, com ampla utilização de modo a corroborar na predição de baixa toxicidade do flavonoide (Tabela 1).

Por conseguinte, o segundo parâmetro relevante é o BBB (*blood-brain barrier* que em uma tradução livre do inglês corresponde ao  $\log_{10}[\text{Cérebro}] / [\text{Sangue}]$ ) que consiste em células endoteliais de junções apertadas, extremamente compactadas, que restringem a capacidade de passagem de substâncias transportadas na corrente sanguínea, mantendo, assim, o ambiente extracelular cerebral constante. No que tange à classificação da travessia da barreira hematoencefálica (BHE), os estudos sugerem, por normatização, os seguintes valores:  $>2,0$  atravessa livremente a BHE, entre 0,1 e 2-0 atravessa moderadamente e  $<0,1$  atravessa de forma reduzida podendo não realizar a travessia (Sharma, Lakkadwala, Modgil, & Singh, 2016; Dolabela et al., 2018; Kanazawa, 2018).

Posto que, por tratar-se de um ligante com sítio ativo na HMG-CoA redutase, a penetração hematoencefálica medida pelo valor de BBB configura-se apenas como um valor secundário de análise para a atividade da substância, visto que se realiza tal análise com o desejo de garantir que o candidato a fármaco não atravesse o BBB, caso contrário, haveria um elevado riscos de efeitos colaterais (Ando; Hisaka, & Suzuki, 2015; Matos, 2017; Zhu et al., 2018). Os resultados constataram a quercetina apresentando um valor de BBB de 0.3736 a classificando como substância de passagem moderada e em comparação com a sinvastatina de 10,2681 sugerindo uma maior proteção quanto a capacidade de chegada no Sistema Nervoso Central e conseqüentemente uma diminuição nos possíveis efeitos adversos advindos da passagem da BHE.

Ainda referente a farmacocinética (Tabela 1), a absorção intestinal humana, medida pelo parâmetro de predição HIA (na sigla em inglês para *human intestinal absorption*) é tida como a soma do nível de absorção e de biodisponibilidade avaliada a partir da proporção de excreção cumulativa na urina, biliar e fezes e, por fim, sendo expressa em porcentagem pela dose de princípio ativo administrado via oral que atinge a veia porta hepática (%HIA) (Fujikawa, Nakao, Shimizu, & Akamtsu, 2007; Moda, 2011; Wang & Hou, 2015).

Sob o mesmo ponto de vista, a análise demonstra a capacidade do principal mecanismo de penetração da estrutura molecular por difusão passiva através do transporte paracelular que ocorre nas células epiteliais intestinais consolidando-se como um dos

processos farmacocinéticos mais críticos tanto para o perfil de ação dos medicamentos administrados por via oral quanto para o delineamento do perfil de absorção no trato gastrointestinal (TGI) que determina a exposição do fármaco para alvos terapêuticos já que. Nesse tocante, o flavonoide investigado demonstrou valor de HIA maior que 70% sendo classificado como de alta absorção (Ando, Hisaka, & Suzuki, 2015; Matos, 2017; Keemink & Bergström, 2018).

Em virtude da complexidade da avaliação da absorção dos compostos foram avaliadas a permeabilidade em células epiteliais, células Caco-2 (provenientes do adenocarcinoma de cólon) e células MDCK (do inglês para *Madin-Darby canine kidney*) (provenientes de rim canino) no intuito de se obter uma predição confiável da absorção por meio da permeabilidade em membranas. No que corresponde a permeabilidade cutânea adota-se por normatização os valores de alta permeabilidade sendo  $<0,1$  e de baixa permeabilidade como  $> 0,1$ . Diante do mencionado, a quercetina ao dispor um valor de  $-4,21157$  enquadra-se como altamente permeável em células epiteliais tal como a sinvastatina de valor  $-1,04701$  (Ando, Hisaka, & Suzuki, 2015; Wang et al., 2016; Yamaura, Chapron, Wang, Himmelfarb, & Thummel, 2016).

No que se refere ao parâmetro descrito na Tabela do modelo de células Caco-2, têm-se que é desenvolvido com a imitação dos processos de transporte transcelular, transporte paracelular e alguns aspectos do transporte ativo na investigação da permeabilidade e efluxo de drogas. Atualmente, o FDA (Food and Drug Administration) o recomenda e também o atribui como mais adequado para parâmetros estimativos de permeabilidade intestinal, visto que a sua habilidade de adquirir similaridade funcional e morfológica a enterócitos humanos é satisfatória. Ademais, vem consolidando-se como mais amplamente empregado na triagem de novas entidades químicas (NCEs) por descritores baseados na estrutura molecular e em algoritmos computacionais no desenvolvimento de fármacos (Alliance et al., 2017; Matos, 2017; Keemink & Bergström, 2018).

Concomitantemente, a fim de aumentar a correlação dos resultados do modelo Caco-2 obtidos *in silico* com os resultados de absorção *in vitro* e de absorção *in vivo* a literatura sugere a investigação das células MDCK. De modo geral, torna-se indubitável a aplicação de ambos modelos (Caco2 e MDCK) na efetiva predição de absorção de quaisquer compostos candidatos a novos fármacos. No que tange às células MDCK, ao considerar a sua diferenciação em células epiteliais colunares com membranas semipermeáveis quando cultivadas ratifica-se o seu potencial de confiança na avaliação da permeabilidade (Cunha et al., 2015; Jones et al., 2015; Matos, 2017).

Nos estudos farmacocinéticos, tanto para Caco-2 (nm/sec) assim como para MDCK (nm/sec) a classificação de permeabilidade corresponde a: baixa permeabilidade < 4 nm/sec, média permeabilidade entre 4 e 70 nm/sec e alta permeabilidade > 70 nm/sec. De acordo com os resultados obtidos, pode-se inferir que a substância de estudo classificou-se como média permeabilidade para Caco-2 e alta permeabilidade para MDCK, nesse último chegando a ser  $2,41 \times 10^3$  vezes maior que o comparativo de referência sinvastatina (Wang & Hou, 2015; Engel & Gasteigner, 2018; Dolabela et al., 2018).

Frente as propriedades ADME/Tox, o metabolismo provavelmente é o parâmetro com maior complexidade de discussão, a afirmação se justifica pela diversificada série de mecanismos e de sistemas enzimáticos (por exemplo, modulação, extensão, geração de metabólitos ativos ou intermediários reativos) na fase de transformação metabólica no processo biológico. Além disso, consequentes reatividade de substrato, variações genótípicas e fenótípicas e interação ligante-enzima metabólica corroboram os entraves da elucidação do metabolismo. Quanto às reações do processo de metabolismo, dividem-se sinteticamente em reações de Fase I e reações de Fase II. Dentre as inúmeras reações enquadradas no metabolismo de Fase I, sobressaem-se com maior importância a família do citocromo P450(CYP) que contem monooxigenases, flavina, enterases e amidases com abundante presença no fígado, rins, intestino, pulmões e cérebro (De Montellano, 2010; Sousa, 2012; Matos, 2017; Dolabela et al., 2018).

Em face disso, a CYP desempenha alta responsabilidade no metabolismo das substâncias endógenas e exógenas, estando os flavonoides incluídos nesse grupo. Ademais, convém enfatizar que os citocromos de metabolização de fármacos estão limitados as subfamílias 1,2,3 e 4, que têm variabilidade expressas em inúmeras isoformas (Stjernschantz; Vermeulen, & Oostenbrink, 2008; De Montellano, 2010; Moda 2011;).

Atualmente, mais de 70% dos fármacos em mercado tem metabolismo mediado pelas CYP1A, CYP2C9, CYP2C18, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1 E CYP3A4. De um ponto de vista mais específico, estudos *in vitro* ressaltam as isoformas CYP1A2, 2C9, 2C19, 2D6, 2E1 e 3A4/5 como fundamentais no estudo do metabolismo tanto combinado em noventa por cento dos fármacos quanto no individual referente à expressão hepática do CYP (Da Costa Nunes, 2015; Sousa, 2012; Matos 2017; Dolabela et al., 2018).

A fim de ponderar os resultados concernentes ao metabolismo, foi considerada a semelhança da quercetina com a sinvastatina conforme o seu enquadramento nos parâmetros aceitáveis quanto à inibição da CYP2C19, CYP2C9 e CYP3A4 e não inibição da CYP2D6. No que diz respeito à CYP3A4 substrato puro têm-se uma melhoria com uma ligação exercida

fracamente. Logo, o presente resultado é consoante a Sousa (2012) que sugerem a participação das isoformas citadas no metabolismo de flavonoides como rutina, naringenina e quercetina em diferentes afinidades como a afinidade basal.

A quercetina ao demonstrar a característica inibitória de CYP1 acorde os achados de Sousa (2012) bem como, os de Wilsher et al. (2017) que demonstram como resultado da inibição a função de produtos carcinogênicos mediados pela função de CYP1. Sob o mesmo ponto de vista, a literatura sugere uma aceitação da hipótese que os flavonoides, por si mesmos, podem atuar como substratos para enzimas CYP1, podendo gerar ação inibitiva de células tumorais pela formação de produtos, particularmente os de conversão, farmacologicamente mais ativos (Androutopoulos, Papakyriakou, Vourloumis, Tsatsakis, & Spandidos, 2010; Elbarbry, Ung, & Abdelkawy, 2017). Em suma, conforme as análises dos resultados ADME (Tabela 1) demonstrou-se que a quercetina apresentou resultados bem próximos aos obtidos para o fármaco sinvastatina nos parâmetros farmacocinéticos avaliados.

Em seguida, avaliou-se o potencial de toxicidade das substâncias por meio da predição dos parâmetros toxicológicos na aplicação ADME/Tox (por exemplo, carcinogenicidade, mutagenicidade e inibição do gene hERG) no intuito de se revelar a proximidade ou distanciamento do flavonoide com o medicamento de referência e com base em critérios de comparação pré-determinados de viabilidade do fármaco (Tabela 2).

**Tabela 2.** Parâmetros toxicológicos de quercetina e sinvastatina.

<b>QUERCETINA</b>		<b>SINVASTATINA</b>	
<b>algae_at</b>	0.0245212	algae_at	0.00319942
<b>Ames_test</b>	Non-mutagen	Ames_test	non-mutagen
<b>Carcino_Mouse</b>	Negative	Carcino_Mouse	Positive
<b>Carcino_Rat</b>	Negative	Carcino_Rat	Positive
<b>daphnia_at</b>	0.120988	daphnia_at	0.00328829
<b>hERG_inhibition</b>	low_risk	hERG_inhibition	low_risk
<b>medaka_at</b>	0.0255821	medaka_at	2.29772e-005
<b>minnow_at</b>	0.0143843	minnow_at	3.02097e-005

<b>TA100_10RLI</b>	Negative	TA100_10RLI	Negative
<b>TA1535_10RLI</b>	Negative	TA1535_10RLI	Negative

Fonte: PREADMET, 2019.

Conforme a interpretação dos parâmetros mencionados na Tabela 2, pode-se observar que a quercetina não apresentou predição à carcinogenicidade em roedores (Rodent Carcingogenicity) inferindo menor toxicidade em comparação a sinvastatina. Tendo em vista que, as metodologias *in vivo* de carcinogenicidade requerem ensaios de extensos períodos, uma vez que se avalia a capacidade da indução de alterações no DNA mediadas pela molécula, a predição *in silico* no servidor PreADMET viabiliza maior rapidez na análise, já que o seu algoritmo baseia-se em dados do NTP (National Toxicology Program) e do FDA, culminando em uma predição confiável de potencial carcinogênico, bem como uma considerável redução dos custos (Jónsdóttir; Jørgensen, & Brunak, 2005; Benfenati, 2016; Effinger, O’Driscoll, McAllister, & Fotaki, 2018).

No que considera a predição da mutagenicidade, recorreu-se a avaliação *in silico* do Teste de Ames que faz uso de estirpes da bactéria *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100 e TA1535) com mutações nos genes que sintetizam a histidina no intuito de avaliar preliminarmente o flavonoide quanto à sua capacidade de provocar alterações genéticas nas bactérias promovendo a reversão e conseqüentemente o crescimento no meio isento de histidina novamente (Benfenati, 2016; Dolabela et al., 2018; Effinger, O’Driscoll, McAllister, & Fotaki, 2018). Isto posto, o composto avaliado apresentou-se como não mutagênico, porém, mesmo sendo consolidado mundialmente em virtude da sua sensibilidade elevada, ainda há um número mediano de resultados falso-positivo atribuídos a essa técnica. Sugere-se, neste caso, a realização de testes complementos a essa análise para corroborar a não mutagenicidade da quercetina (Engel & Gasteiger, 2018; Fowler, Fields, Hargreaves, Reeve, & Bombick, 2018).

Quanto à predição da toxicidade em organismos marinhos, os dados são obtidos a partir de séries de propriedades químicas estimativas com análise das redes neurais de toxicidade aquática aguda. Nesse contexto, têm-se que os critérios de avaliação desses parâmetros incidem na afirmativa de que quanto menor é a concentração da substância com capacidade de inibição do crescimento, maior é o seu potencial tóxico. Frente ao critério mencionado, observou-se um pequeno aumento nos números dos parâmetros de toxicidade em algas e em *Daphnia sp.* quando se compara ao fármaco de referência que denotam uma

discreta melhoria (Costa, Olivi, Botta, & Espindola, 2008; Melkinov, Kostal, Voutchkova-Kostal, Zimmerman, & Anastas, 2016; Dolabela et al., 2018).

Alia-se a essas análises, ainda, a avaliação da capacidade inibitória da quercetina no gene hERG em face da associação deste com a função cardíaca. Sabe-se, que o hERG codifica a subunidade  $\alpha$  do canal de potássio que é responsável pela corrente subjacente à repolarização do miócito. Logo, o bloqueio farmacológico do canal hERG gera uma repolarização lenta, e portanto, um prolongamento do potencial de ação e aumento no intervalo QT que pode ocasionar arritmias e insuficiência cardíaca. Diante do observado, a quercetina assemelha-se a sinvastatina por não inibir o gene hERG (Jing, Easter, Peters, Kim, & Enyedy, 2015; Zhang et al., 2016; Alves, Braga, & Andrade, 2018).

Em síntese, de acordo com a análise e discussão dos parâmetros do potencial de toxicidade das substâncias (Tabela 2) observou-se que a quercetina apresenta proximidade com o fármaco de referência, visto que seus valores preditivos não apresentam potencial carcinogênico e mutagênico em roedores, e, ainda, não inibe o gene hERG.

### **Análise Farmacodinâmica e Docking Molecular**

O *docking* molecular é um método mestre na biologia molecular estrutural e no design de medicamentos assistidos por técnica computacional com o reconhecimento molecular concebido por meio da complementaridade das estruturas moleculares da superfície e da energia envolvida na ligação. Essa complementaridade pode assumir várias formas: ligação de hidrogênio, interação carga-carga, interação de Van der Waals, tamanho e forma das superfícies. Nesse método, tem-se a melhor predição da orientação da molécula e seu acoplamento ao alvo biológico para formação do complexo com atividade biológica.

No presente estudo, a molécula a ser testada (ligante) foi desenhada e submetida ao *docking* usando o sistema proteína flexível – ligante rígido utilizando-se do Autodock Vina. Para realização do *docking* (ligante–proteína), foi definido um grid de ancoragem considerando o sítio ortostérico da enzima, tomando como centro do grid o local de ancoragem do fármaco na enzima, visto que essa enzima foi obtida do PDB cristalizada ancorada junto ao fármaco. Após o *docking*, a energia livre de ligação e as interações não covalentes entre o ligante e os aminoácidos do sítio ativo foram analisadas e comparadas com o fármaco padrão.

No *docking*, avaliaram-se as conformações espaciais mais viáveis do ligante, identificando qual conformação tem maior probabilidade do ligante acoplar-se no alvo. Para

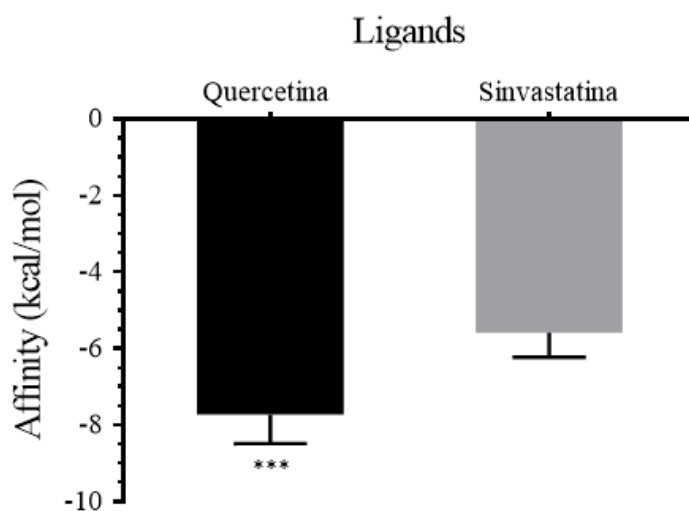


análise, cada conformação expressa uma respectiva energia livre de ligação que provém da composição química dos grupos funcionais presentes na molécula e da conformação tridimensional destes no complexo, considerando que quanto menor for a energia mais estável é a conformação da interação (Florence & Attwood, 2011).

A energia livre de interação é calculada por meio das ligações não covalentes entre os grupos funcionais na molécula bioativa e no sítio. Conforme Smith, Van Ness e Abbott (2007), a variação de energia livre de ligação não covalente entre o ligante e a proteína é obtido pela energia livre de do sistema ligado (ligante acoplado no sítio) menos a diferença da energia livre do alvo e do ligante. Em virtude disso, as energias livres são expressas como energia interna da molécula subtraída da multiplicação da temperatura absoluta do sistema (309K) com a entropia da molécula estudada.

Diante do mencionado, obteve-se por meio de análise computacional estatística dos valores de energia de ligação das nove poses mais favoráveis do flavonoide quercetina e sinvastatina com o alvo HMG-CoA redutase (Gráfico 1) com variação de afinidade entre os dois ligantes estatisticamente significativa com  $P < 0,0001$ .

**Gráfico 1.** Comparação entre as energias livres de interação de quercetina e sinvastatina com Hmg-CoA redutase através do teste T de amostras não pareadas.



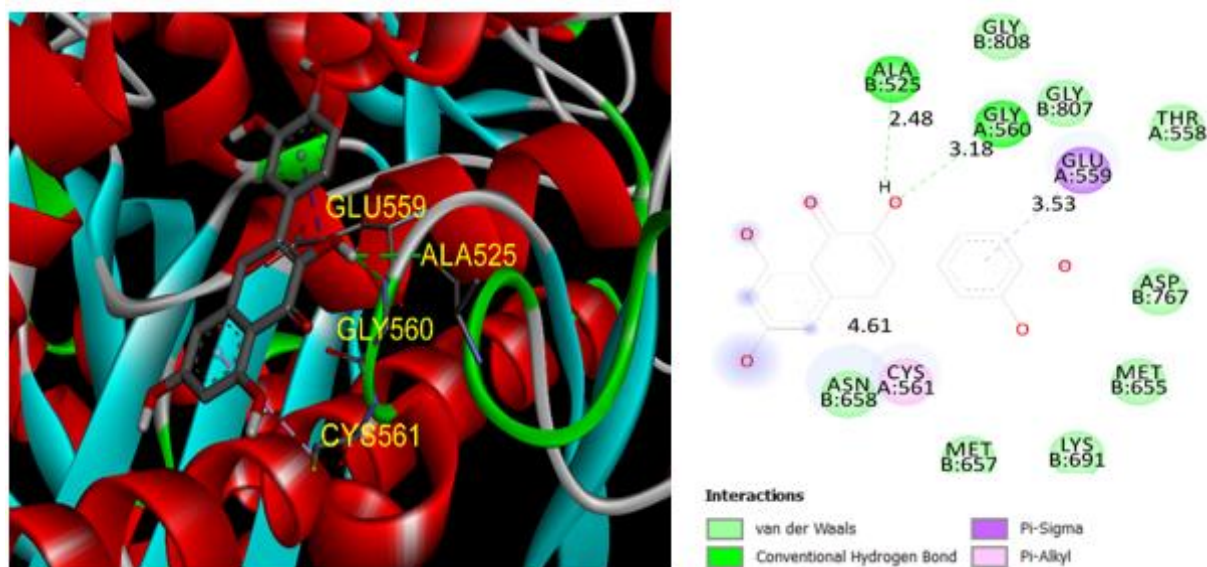
Fonte: Autor, 2019

Convém salientar, que conforme demonstrado no gráfico 1, o docking molecular indica o valor da energia de ligação da pose mais estável para o flavonoide e o alvo sendo  $-8,8$  kcal/mol enquanto que com sinvastatina apresentou uma energia de  $-6,6$  kcal/mol,

evidenciando que a quercetina, por apresentar menor energia livre de ligação, liga-se com maior estabilidade com o sítio ativo do que o fármaco comercial. Portanto, nesse caso significa que o complexo quercetina-HMG-CoA redutase é estatisticamente mais estável que o formado entre sinvastatina e o mesmo alvo.

A predição farmacodinâmica refere-se a verificação do potencial farmacológico do composto flavonoide quercetina. A presente análise deu-se a partir da avaliação *in silico*, por meio de *docking* molecular, das interações entre o composto e o sítio ativo da enzima humana HMG-CoA redutase (PDB ID: 1DQ8) (Figura 1).

**Figura 1.** Complexo *ligante-proteína alvo* formado pela Quercetina e HMG-CoA redutase e interações com os aminoácidos.



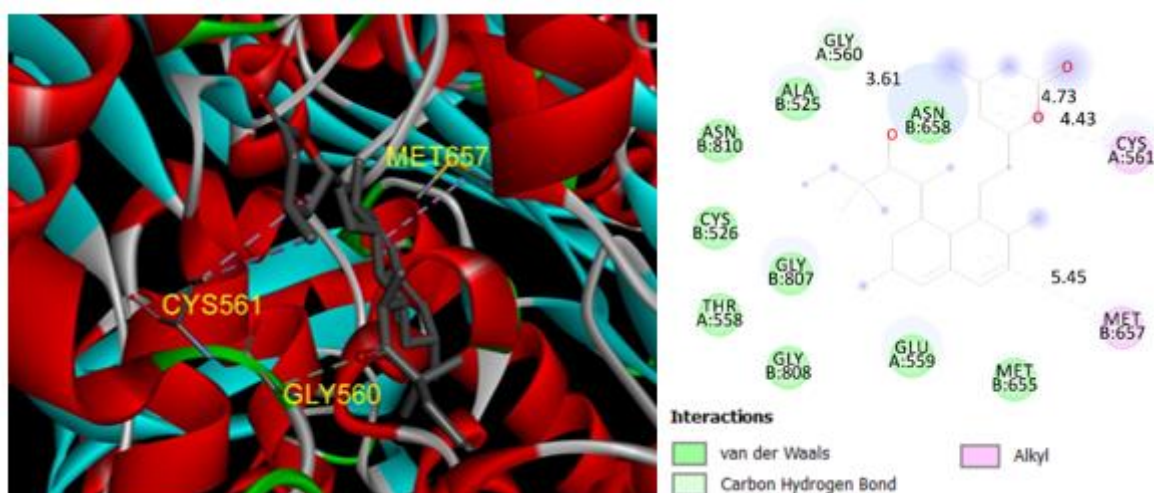
Fonte: Discovery Studio, 2019.

Conforme visualização da Figura 1, os aminoácidos identificados na interação com o flavonoide no sítio ativo foram alanina (525) apresentando distância de 2.4 Å, glicina (560) com 3.1Å, ácido glutâmico (559) com 3.5 Å, asparagina (658) e cisteína (561) ambas com 4.61 Å. Segundo os resultados obtidos, os aminoácidos ácido glutâmico (559), alanina (525), glicina (560) e cisteína (560) demonstraram-se essenciais para a interação do ligante no sítio da HMG-CoA redutase.

Quanto ao tipo de interações intermoleculares observadas, foram identificadas: ligação de hidrogênio convencional (conformação típica da ligação com a presença de heteroátomo);

interação Pi-grupo alquil, Pi – Sigma e forças de Van Der Waals. Cabe ainda salientar que, essas não foram as únicas ligações possíveis, mas sim, aquelas que obtiveram as menores distâncias e maiores forças por serem do tipo dipolo-dipolo induzido e permanente.

**Figura 2.** Complexo *ligante-proteína alvo* formado pela Sinvastatina e HMG-CoA redutase e interações com os aminoácidos.



Fonte: Discovery Studio, 2019.

Mediante o exposto na Figura 1, os aminoácidos presentes na interação fármaco/receptor foram: a glicina (560) apresentando distância de 3.61 Å, cisteína (561) com 3.1 Å, asparagina (658) metionina (657) com 5.45 Å, glicina (807), ácido glucônico (559), alanina (525). Nessa perspectiva, as interações mais significativas foram asparagina (658), glicina (560) e cisteína (561) por apresentarem menores distâncias e maiores forças intermoleculares. Quanto ao tipo de interações intermoleculares observadas, foram identificadas: ligação de hidrogênio, interação Pi-grupo alquil e forças de Van Der Waals.

Infere-se, portanto, que a interação quercetina e alvo ocorreu no sítio ortostérico da enzima, mesmo sítio de interação de sinvastatina com o alvo, sugerindo uma inibição competitiva, visto que alguns aminoácidos que participam da interação com quercetina também participam da ligação com sinvastatina. Além disso, foi possível observar também que as distâncias das interações formadas entre quercetina e alvo foram menores do que as distâncias de ligação entre sinvastatina e alvo, o que associado com o tipo de ligações

formadas entre quercetina e a enzima corroboram o dado estatístico de menor energia livre de interação em relação à sinvastatina.

#### 4. Considerações finais

Em suma, o presente trabalho forneceu um entendimento de maneira simulada de como a quercetina interage na inibição da HMG-CoA redutase. Por meio das predições realizadas, pode-se sugerir que a quercetina simula-se mais segura, com menos efeitos colaterais e sem potenciais riscos toxicológicos (mutagenicidade e carcinogenicidade) em comparação com o medicamento de referência sinvastatina. Deste modo, ao satisfazer os parâmetros farmacocinéticos e toxicológicos a pesquisa demonstrou que a quercetina qualifica-se para ensaios *in vitro* e *in vivo* como uma potencial droga natural no tratamento das dislipidemias.

Dessa forma, os resultados do docking molecular na HMG-CoA redutase confirmaram a formação do complexo (enzima–ligante) entre a estruturas química da quercetina no sítio ativo da enzima com uma energia livre de ligação de -8,8 kcal/mol enquanto a sinvastatina apresentou uma energia de -6.6 kcal/mol, evidenciando que a quercetina apresenta uma ligação de maior estabilidade no alvo farmacológico do que o fármaco comercial.

Por fim, o uso de produtos naturais tem-se apresentando como significativa alternativa terapêutica na farmacoterapia de diversas patologias, particularmente das doenças crônicas, uma vez que se aumentam a acessibilidade, reduzem-se os custos industriais e podem apresentar menos efeitos adversos. Acrescenta-se que mais investigações são necessárias para consolidar diferentes locais de ligação da substância e outros mecanismos de ação subjacentes aos efeitos benéficos da quercetina como agente hipolipidêmico.

#### Referências

Alliance, D., Santos, C. B. R. D., Barbosa, L. M. C., Gomes, J. S., Lobato, C. C., Viana, J. C., & Souto, R. N. P. (2017). Chemical Study, Predictions In Silico and Larvicide Activity of the Essential Oil of Root *Philodendron deflexum* Poepp. *Journal of Computational and Theoretical Nanoscience*, 14(7): 3330-3337.

Alves, V. M., Braga, R. C., & Andrade, C. H. (2018). Computational Approaches for Predicting hERG Activity. *Computational Toxicology: Risk Assessment for Chemicals*, 69-91.

Ando, H., Hisaka, A., & Suzuki, H. (2015). A new physiologically based pharmacokinetic model for the prediction of gastrointestinal drug absorption: translocation model. *Drug Metabolism and Disposition*, 43(4): 590-602.

Androutsopoulos, V. P., Papakyriakou, A., Vourloumis, D., Tsatsakis, A. M., & Spandidos, D. A. (2010). Dietary flavonoids in cancer therapy and prevention: substrates and inhibitors of cytochrome P450 CYP1 enzymes. *Pharmacology & therapeutics*, 126(1), 9-20.

Baigent, C., Blackwell, L., Emberson, J., Holland, L. E., Reith, C., Bhala, N., Peto, R., Barnes, E.H., Keech, U., Simes, L., & Collins, R. (2010). Efficacy and safety of more intensive lowering of LDL cholesterol: a meta-analysis of data from 170,000 participants in 26 randomised trials.

Bale, B. F., Doneen, A. L., & Vigerust, D. J. (2017). High-risk periodontal pathogens contribute to the pathogenesis of atherosclerosis. *Postgraduate medical journal*, 93(1098): 215-220.

Benfenati, E. (Ed.). (2016). *In silico methods for predicting drug toxicity*. Humana Press.

Comin, E.V., Catalan-Ramos A., Iglesias-Rodal, M., Grau M., Del Val, J.L., Consola, A., Amado, E., Pons, A., Mata-Cases, M., Franzi, A., Ciurana, R., Frigola, E., Cos, X., Davins, J., & Verdu-Rotellar, J.M. (2017). Impact of implementing electronic clinical practice guidelines for the diagnosis, control and treatment of cardiovascular risk factors: A pre-post controlled study. *Atencion primaria*, 49(7), 389-398.

Costa, C. R., Olivi, P., Botta, C. M., & Espindola, E. L. (2008). A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. *Química Nova*, 31(7), 1820-1830.

Cunha, E. L., Santos, C. F., Braga, F. S., Costa, J. S., Silva, R. C., Favacho, H. A., Hagemelin, L.I, Carvalho, J.C.T., Silva, C.H.T.P., & Santos, C. B. (2015). Computational investigation of antifungal compounds using molecular modeling and prediction of ADME/Tox properties. *Journal of Computational and Theoretical Nanoscience*, 12(10), 3682-3691.

Da Costa Nunes, I. K. (2015). A Importância do Estudo do Metabolismo nos Estágios Iniciais de Desenvolvimento de Fármacos. *Revista Virtual de Química*, 7(2), 649-662.

De Araújo Silva, F., Bizerra, A. M. C., & Fernandes, P. R. D. (2018). TESTES FÍTOQUÍMICOS EM EXTRATOS ORGÂNICOS DE *Bixa orellana* L (URUCUM). *HOLOS*, 2, 484-498.

De Montellano, P. R. O. (Ed.). (2010). *Cytochrome P450: Structure, Mechanism, and Biochemistry*. Springer Science & Business Media.

Dolabela, M. F., Silva, A. R. P. D., Ohashi, L. H., Bastos, M. L. C., Silva, M. C. M. D., & Vale, V. V. (2018). Estudo in silico das atividades de triterpenos e iridoides isolados de *Himatanthus articulatus* (Vahl) Woodson.

Efinger, A., O'Driscoll, CM, McAllister, M., & Fotaki, N. (2018). Previsão ADME In vitro e In silico. Em A. Talevi, e PA Quiroga (Eds.), *Processos ADME em Ciências Farmacêuticas: Dosagem, Design e Farmacoterapia Sucesso* Springer.

Elbarbry, F., Ung, A., & Abdelkawy, K. (2017). Studying the inhibitory effect of quercetin and thymoquinone on human cytochrome P450 enzyme activities. *Pharmacognosy magazine*, 13(Suppl 4), S895.

Engel, T., & Gasteiger, J. (Eds.). (2018). *Applied chemoinformatics: achievements and future opportunities*. John Wiley & Sons.

Florence, A., & Attwood, D. (2011). *Princípios físico-químicos em farmácia*. 2ª. São Paulo: *Pharmabooks Editora*.

Fowler, K., Fields, W., Hargreaves, V., Reeve, L., & Bombick, B. (2018). Development, qualification, validation and application of the Ames test using a VITROCELL® VC10® smoke exposure system. *Toxicology reports*, 5, 542-551.



Fujikawa, M., Nakao, K., Shimizu, R., & Akamatsu, M. (2007). QSAR study on permeability of hydrophobic compounds with artificial membranes. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 15(11), 3756-3767.

Iqbal, D., Khan, M. S., Khan, M. S., Ahmad, S., Hussain, M. S., & Ali, M. (2015). Bioactivity guided fractionation and hypolipidemic property of a novel HMG-CoA reductase inhibitor from *Ficus virens* Ait. *Lipids in health and disease*, 14(1), 15.

Jing, Y., Easter, A., Peters, D., Kim, N., & Enyedy, I. J. (2015). In silico prediction of hERG inhibition. *Future medicinal chemistry*, 7(5), 571-586.

Jones, H. M., Chen, Y., Gibson, C., Heimbach, T., Parrott, N., Peters, S. A., Snoeys, J., Upreti, V.V., Zheng, S.D., & Hall, S. D. (2015). Physiologically based pharmacokinetic modeling in drug discovery and development: a pharmaceutical industry perspective. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 97(3), 247-262.

Jónsdóttir, S. Ó., Jørgensen, F. S., & Brunak, S. (2005). Prediction methods and databases within chemoinformatics: emphasis on drugs and drug candidates. *Bioinformatics*, 21(10), 2145-2160.

Kanazawa, T. (2018). Development of noninvasive drug delivery systems to the brain for the treatment of brain/central nervous system diseases. *Yakugaku zasshi: Journal of the Pharmaceutical Society of Japan*, 138(4), 443-450.

Keemink, J., & Bergström, C. A. (2018). Caco-2 cell conditions enabling studies of drug absorption from digestible lipid-based formulations. *Pharmaceutical research*, 35(4), 74.

Keemink, J., & Bergström, C. A. (2018). Caco-2 cell conditions enabling studies of drug absorption from digestible lipid-based formulations. *Pharmaceutical research*, 35(4), 74.

Kuppusamy, P., Yusoff, M. M., Parine, N. R., & Govindan, N. (2015). Evaluation of in-vitro antioxidant and antibacterial properties of *Commelina nudiflora* L. extracts prepared by different polar solvents. *Saudi journal of biological sciences*, 22(3), 293-301.



Lima, L. R. P. D., Oliveira, T. T. D., Nagem, T. J., & Pacheco, S. (2010). Efeito de flavonoides e de corantes do urucum sobre a hiperlipidemia induzida em coelhos.

Lotufo, P. A. (2015). Cardiovascular diseases in Brazil: premature mortality, risk factors and priorities for action. Comments on the preliminary results from the Brazilian National Health Survey (PNS), 2013. *Sao Paulo Medical Journal*, 133(2), 69-72.

Matos, K. S. Estudos computacionais e experimentais da permeabilidade celular de candidatos a fármacos (Doctoral dissertation, Universidade de São Paulo).

Melnikov, F., Kostal, J., Voutchkova-Kostal, A., Zimmerman, J. B., & Anastas, P. T. (2016). Assessment of predictive models for estimating the acute aquatic toxicity of organic chemicals. *Green Chemistry*, 18(16), 4432-4445.

Mesquita, S. S., Teixeira, C. M. L. L., & Servulo, E. F. C. (2017). Carotenoides: propriedades, aplicações e mercado. *Revista virtual de Química*, 9(02), 672-688.

Moda, T. L. (2011). *Modelagem In silico de propriedades farmacocinéticas para a avaliação de candidatos a novos fármacos* (Doctoral dissertation, Universidade de São Paulo).

Norinder, U., & Bergström, C. A. (2006). Prediction of ADMET properties. *ChemMedChem: Chemistry Enabling Drug Discovery*, 1(9), 920-937.

Parvin, A., Yaghmaei, P., Noureddini, M., Haeri Roohani, S. A., & Aminzadeh, S. (2019). Comparative effects of quercetin and hydroalcoholic extract of *Otostegia persica* boiss with atorvastatin on atherosclerosis complication in male wistar rats. *Food Science & Nutrition*, 7(9), 2875-2887.

Pereira, A.S. et al. (2018). *Metodologia da pesquisa científica*. [e-book]. Santa Maria. Ed. UAB/NTE/UFSM. Disponível em: [https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/15824/Lic\\_Computacao\\_Metodologia-Pesquisa-Cientifica.pdf?sequence=1](https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/15824/Lic_Computacao_Metodologia-Pesquisa-Cientifica.pdf?sequence=1). Acesso em: 19 nov. 2019.

Pereira, L. P., Sichieri, R., Segri, N. J., Silva, R. M. V. G. D., & Ferreira, M. G. (2015). Dislipidemia autorreferida na região Centro-Oeste do Brasil: prevalência e fatores associados. *Ciência & Saúde Coletiva*, 20, 1815-1824.

Pillai, S., Soni, S., & Dhulap, S. (2019). Pharmacological and cosmeceutical applications of Bixa Orellana L.: A review of the scientific and patent literature. *Indian Journal of Natural Products and Resources (IJNPR)[Formerly Natural Product Radiance (NPR)]*, 9(4), 281-289.

Pizziolo, V. R., Brasileiro, B. G., Oliveira, T. T. D., & Nagem, T. J. (2011). Plantas com possível atividade hipolipidêmica: uma revisão bibliográfica de livros editados no Brasil entre 1998 e 2008.

Ribeiro, A. G., Cotta, R. M. M., & Ribeiro, S. M. R. (2012). The promotion of health and integrated prevention of risk factors for cardiovascular diseases. *Ciencia & saude coletiva*, 17(1), 7.

Sharma, G., Lakkadwala, S., Modgil, A., & Singh, J. (2016). The role of cell-penetrating peptide and transferrin on enhanced delivery of drug to brain. *International journal of molecular sciences*, 17(6), 806.

Silva, L. S. (2013). Efeitos do beta caroteno e do urucum sobre a expressão de genes hepáticos do metabolismo do colesterol em ratas hipercolesterolêmicas.

Siqueira, A. D. S. E., Siqueira-Filho, A. G. D., & Land, M. G. P. (2017). Analysis of the Economic Impact of Cardiovascular Diseases in the Last Five Years in Brazil. *Arquivos brasileiros de cardiologia*, 109(1), 39-46.

Šmelcerović, A., Tomović, K., Šmelcerović, Ž., Petronijević, Ž., Kocić, G., Tomašič, T., Jakopin, Z., & Anderluh, M. (2017). Xanthine oxidase inhibitors beyond allopurinol and febuxostat; an overview and selection of potential leads based on in silico calculated physico-chemical properties, predicted pharmacokinetics and toxicity. *European journal of medicinal chemistry*, 135, 491-516.

Smith, J. M., Van Ness, H. C., & Abbott, M. M. (2007). Introdução à Termodinâmica da Engenharia Química, 7ª edição. LTC, Rio de Janeiro, 200.

Sosa, H. M., Sosa, Y. J., Phansalkar, S., & Stieglitz, K. A. (2017). Structural Analysis of Flavonoid/Drug Target Complexes: Natural Products as Lead Compounds for Drug Development. *Nat Prod Chem Res*, 5(254), 2.

Sousa, M. C. D. (2012). Estudos de modelagem molecular para previsão In Silico dos prováveis metabólitos de fase I de flavonóides.

Souza, G. H. B. D., Mello, J. C. P. D., & Lopes, N. P. (2011). Farmacognosia: coletânea científica. Editora UFOP.

Stjernschantz, E., Vermeulen, N. P., & Oostenbrink, C. (2008). Computational prediction of drug binding and rationalisation of selectivity towards cytochromes P450. *Expert opinion on drug metabolism & toxicology*, 4(5), 513-527.

Victor, R. J. J., Araújo, G. R., da Cruz Pádua, B., Chaves, M. M., Pedrosa, M. L., Silva, M. E., & Costa, D. C. (2011). Annato extract and  $\beta$ -carotene modulate the production of reactive oxygen species/nitric oxide in neutrophils from diabetic rats. *Journal of clinical biochemistry and nutrition*, 1112050127-1112050127.

Vilar, D. D. A., Vilar, M. S. D. A., Moura, T. F. A. D. L., Raffin, F. N., Oliveira, M. R. D., Franco, C. F. D. O., Athayde-Filho, P. F., Diniz, M. F. F., & Barbosa-Filho, J. M. (2014). Traditional uses, chemical constituents, and biological activities of *Bixa orellana* L.: a review. *The Scientific World Journal*, 2014.

Wang, J., & Hou, T. (2015). Advances in computationally modeling human oral bioavailability. *Advanced drug delivery reviews*, 86, 11-16.

Wang, N. N., Dong, J., Deng, Y. H., Zhu, M. F., Wen, M., Yao, Z. J., & Cao, D. S. (2016). ADME properties evaluation in drug discovery: prediction of Caco-2 cell permeability using a combination of NSGA-II and boosting. *Journal of chemical information and modeling*, 56(4), 763-773.

Wilsher, N. E., Arroo, R. R., Matsoukas, M. T., Tsatsakis, A. M., Spandidos, D. A., & Androutsopoulos, V. P. (2017). Cytochrome P450 CYP1 metabolism of hydroxylated flavones and flavonols: selective bioactivation of luteolin in breast cancer cells. *Food and Chemical Toxicology*, 110, 383-394.

Xu, D. P., Li, Y., Meng, X., Zhou, T., Zhou, Y., Zheng, J., Zhang, J.J., & Li, H. B. (2017). Natural antioxidants in foods and medicinal plants: Extraction, assessment and resources. *International journal of molecular sciences*, 18(1), 96.

Xu, D., Hu, M. J., Wang, Y. Q., & Cui, Y. L. (2019). Antioxidant activities of quercetin and its complexes for medicinal application. *Molecules*, 24(6), 1123.

Xue, F., Nie, X., Shi, J., Liu, Q., Wang, Z., Li, X., Zhou, J., Su, J., Xue, M., Chen, W., & Wang, Y. D. (2017). Quercetin inhibits LPS-induced inflammation and ox-LDL-induced lipid deposition. *Frontiers in pharmacology*, 8, 40.

Yamaura, Y., Chapron, B. D., Wang, Z., Himmelfarb, J., & Thummel, K. E. (2016). Functional comparison of human colonic carcinoma cell lines and primary small intestinal epithelial cells for investigations of intestinal drug permeability and first-pass metabolism. *Drug Metabolism and Disposition*, 44(3), 329-335.

Yan, A. (2018). Prediction of ADME Properties. *Applied Chemoinformatics: Achievements and Future Opportunities*, 333-357.

Zhang, C., Zhou, Y., Gu, S., Wu, Z., Wu, W., Liu, C., Wang, k., Liu, G., Li, W., & Tang, Y. (2016). In silico prediction of hERG potassium channel blockage by chemical category approaches. *Toxicology research*, 5(2), 570-582.

Zhu, L., Zhao, J., Zhang, Y., Zhou, W., Yin, L., Wang, Y., Fan, Y., & Liu, H. (2018). ADME properties evaluation in drug discovery: In silico prediction of blood–brain partitioning. *Molecular diversity*, 22(4), 979-990.

**Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito**

Maria Camila Leal de Moura – 40%

Verônica Lorranny Lima Araújo – 30%

Joubert Aires de Sousa – 30%