



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAPÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

RENATA CRISTINA VALE DOS SANTOS BITTENCOURT

**APLICAÇÃO DE TRIAGEM VIRTUAL NA IDENTIFICAÇÃO DE
POTENCIAIS INIBIDORES DA CICLOOXIGENASE-2 A PARTIR DO
CELECOXIBE**

MACAPÁ - AP
2020



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAPÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

RENATA CRISTINA VALE DOS SANTOS BITTENCOURT

**APLICAÇÃO DE TRIAGEM VIRTUAL NA IDENTIFICAÇÃO DE
POTENCIAIS INIBIDORES DA CICLOOXIGENASE-2 A PARTIR DO
CELECOXIBE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Amapá (UNIFAP), como requisito para aquisição do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Cleydson Breno Rodrigues dos Santos.

MACAPÁ-AP

2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca Central/UNIFAP-Macapá-AP
Elaborado por Cristina Fernandes – CRB-2 / 1569

B624A Bittencourt, Renata Cristina Vale dos Santos.

Aplicação de triagem virtual na identificação de potenciais inibidores da ciclooxigenase-2 a partir do celecoxibe / Renata Cristina Vale dos Santos Bittencourt. - Macapá, 2020.

1 recurso eletrônico. 73 folhas.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Amapá, Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Macapá, 2020.

Orientador: Cleydson Breno Rodrigues dos Santos.

Coorientador: .

Modo de acesso: World Wide Web.

Formato de arquivo: Portable Document Format (PDF).

1. Anti-inflamatório. 2. Inibidores de COX-2. 3. Abordagem de modelagem molecular. I. Santos, Cleydson Breno Rodrigues dos, orientador. II. Universidade Federal do Amapá. III. Título.

CDD 23. ed. – 581.4

FOLHA DE APROVAÇÃO

RENATA CRISTINA VALE DOS SANTOS BITTENCOURT

ABORDAGENS DE MODELAGEM MOLECULAR PARA IDENTIFICAR POTENCIAIS CANDIDATOS ANTI-INFLAMATÓRIOS PARA CICLOOXIGENASE-2 A PARTIR DO CELECOXIBE.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Amapá (UNIFAP), como requisito para aquisição do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Cleydson Breno Rodrigues dos Santos.

Aprovada em: ____/____/____

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Cleydson Breno Rodrigues dos Santos (Orientador/ UNIFAP)

MACAPÁ - AP

2020

A todos que de forma direta ou indireta me fizeram chegar
neste momento de finalização desta etapa.

AGRADECIMENTOS

Ao meu esposo que esteve ao meu lado.

As minhas filhas que são minha força diária.

Ao meu orientador que, de forma amigável, sempre incentivou para que chegasse até aqui.

A minha mãe que mesmo de longe, sempre me apoiou com suas sábias palavras.

Aos colegas do laboratório pelos momentos de aprendizado.

E, acima de tudo, a Deus, pela vida e conhecimento.

**“Viver é enfrentar um problema atrás do outro. O modo como você o encara é
que faz a diferença.”**

Benjamin Franklin

RESUMO

Os fármacos anti-inflamatórios não-esteroidais seletivos para inibição da ciclo-oxigenase-2 (COX-2) foram desenvolvidos para evitar ou mesmo minimizar os efeitos colaterais dos inibidores não-seletivos da COX-1. Assim, o presente trabalho tem como objetivo identificar potenciais candidatos a fármacos com atividade anti-inflamatória a partir do celecoxibe através de abordagens de modelagem molecular. Neste estudo, o PDB 3LN1 foi escolhido como modelo para realizar a triagem virtual baseada em ligantes nas bases de dados comerciais (Chembridge DIVERSet™-EXPRESS-Pick™ Collection (DIVERSet™-EXP), DIVERSet CORE Library (DIVERSet™-CL), ZINC drug database, ZINC natural stock, ZINC Drug@FDA BindingDB e Maybridge), buscando derivados com similaridade em forma (ROCS) e potencial eletrostático (EON). Os perfis farmacocinéticos e de toxicidade dos compostos foram determinados usando o Qikprop e Derek junto ao Protox (servidor da web), onde foram então filtradas seiscentas moléculas. A avaliação dos modos de ligação e o modo de interação via docking molecular foram realizados em comparação ao composto comercial (celecoxibe). A molécula LMQC_01 e a molécula LMQC_02 nas previsões de propriedades farmacocinéticas estavam dentro da faixa recomendada, semelhantes a 95% dos medicamentos disponíveis no mercado e sem alerta de toxicidade. No acoplamento molecular da enzima COX-2, a LMQC_01 tinha uma afinidade de ligação de -10,1 kcal / mol, enquanto a LMQC_02 mostrou uma afinidade *in silico* de -10,5 kcal / mol, indicando boa eficiência do método de triagem utilizado. As estruturas selecionadas apresentaram similaridade com o pivô celecoxibe. Com base na afinidade e nas previsões de ligação, as duas moléculas foram consideradas mais promissoras, podendo ser indicadas como candidatas a estudos *in vitro* e *in vivo*.

Palavras-chave: Anti-inflamatório; Inibidores de COX-2; Abordagem de modelagem molecular

ABSTRACT

Non-steroidal anti-inflammatory drugs are inhibitors of cyclooxygenase-2 (COX-2) and were developed in order to avoid the side effects of non-selective inhibitors via COX-1. The present study is thus aimed to identify new selective chemical entities for the COX-2 enzyme via molecular modeling approaches. In this study was chose Celecoxib as a template molecule to perform a ligand-based virtual screening in the ChemBrigde (*Chembridge DIVERSet™-EXPRESS-Pick™ Collection (DIVERSet™-EXP)*, *DIVERSet CORE Library (DIVERSet™-CL)*, *ZINC drug database*, *ZINC natural stock e ZINC Drug@FDA BindingDB e Maybridge* subcollection) database, searching for derivatives with similarity in shape (ROCS) and electrostatic potential (EON). The pharmacokinetic and toxicolocity profiles of the compounds were determined using Qikprop, Derek and Protox webserver, as well as the binding modes and mode of interaction via molecular docking compared to commercial compound (celecoxib). Thus, six hundred molecules were filtered based on their pharmacokinetic and toxicity properties. In the molecular docking COX-2 enzyme, LMQC_01 molecule had binding affinity of -10.1 kcal/mol, whereas and LMQC_02 molecule show in silico affinity of -10.5 kcal/mol indicating good efficiency of the screening method used. The LMQC_01 and LMQC_02 in predictions for pharmacokinetic properties, were within the recommended range, similar to 95% of the drugs available on the market and no toxicity warning. The selected structures presented similarity with the pivot Celecoxibe. Based on binding affinity and predictions, two molecules were considered more promising, can be indicated as candidates for studies *in vitro* and *in vivo*.

Keywords: Anti-inflammatory; COX-2 inhibitors; Molecular modeling approches.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Síntese de prostanoídes e receptores prostanoídes.....	5
Figura 2.	Diferenças estruturais entre as enzimas ciclooxigenase 1 e 2.....	6
Figura 3.	Estrutura química do anel peridroclícopentanofenantreno (A) e do colesterol (B).....	8
Figura 4.	Estruturas químicas da cortisona (A), hidrocortisona (cortisol) (B), corticosterona (C) e 11-deoxicorticosterona (D).....	9
Figura 5.	Estruturas químicas da prednisona (A) e prednisolona (B).....	10
Figura 6.	Estruturas químicas dos principais anti-inflamatórios não-esteroidais (AINES).....	11
Figura 7.	Estruturas químicas dos principais anti-inflamatórios não-esteroidais (AINES) seletivos para COX-2.....	11
Figura 8.	Estrutura química do Celecoxibe (A) e rofecoxibe (B).....	13
Figura 9.	Estruturas do Celecoxibe (A), Ácido Acetilsalicílico (B) e Ibuprofeno (C).....	17
Figura 10.	Etapas da descoberta e desenvolvimentos de fármacos.....	17
Figura 11.	Triagem Virtual.....	29
Figura 12.	Resultado da validação COX-2 (<i>Mus musculus</i> , PDB 3LN1).....	35
Figura 13.	Valores de afinidade de ligação do ligante ao PDB ID 3LN1 da COX-2 (<i>Mus musculus</i>) obtido por acoplamento molecular.....	36
Figura 14.	Docking molecular do Celecoxibe e interações com resíduos da enzima COX-2.....	37
Figura 15.	Docking molecular do composto LMQC_1 e interações com resíduos da enzima COX-2.....	38
Figura 16.	Docking molecular do composto LMQC_2 e interações com resíduos da enzima COX-2.....	39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Dados de protocolos usados na validação de docking molecular.....	28
Tabela 2.	Pontuações ROCS das moléculas selecionadas.....	30
Tabela 3.	Descritores moleculares para avaliação da biodisponibilidade.	31
Tabela 4.	Descritores de permeabilidade.....	32
Tabela 5.	Previsão de toxicidade pela identificação de grupos toxicóforos e LD50.....	34
Tabela 6.	Comparação entre afinidades de ligação experimental e teórica.....	36
Tabela 7.	Interações com resíduos de aminoácidos e respectivas distâncias entre os ligantes e enzima COX-2.....	40

LISTA DE QUADROS

Quadro 1.	Principais fatores envolvidos no processo inflamatório.....	1
Quadro 2.	Características dos processos inflamatórios agudos e crônicos.....	4
Quadro 3.	Classificação dos AINEs de acordo com atividade inibitória sobre as isoformas COX-1 e COX-2.....	12

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA	Ácido Araquidônico
AINEs	Anti-Inflamatórios-Não-Esteroidais
COX	Ciclooxigenase
COX-1	Ciclooxigenase-1
COX-2	Ciclooxigenase-2
CXC	X= aminoácido e C= cisteína
EP1/EP2/EP3	Receptores da prostaglandina E
Gly	Glicina
IL-1	Macrófagos, Linfócitos B, monócitos e célula dendríticas
IL-6	Macrófagos, linfócitos T auxiliares tipo 2, linfócitos B, astrócitos, endotélio
NO	Óxido Nítrico
Kb	Kilobases
kDa	Kilodalton
Leu	Leucina
LT	Leucotrieno
PGG2	Prostaglandina G2

PGH2	Prostaglandina H2
PGE2	Prostaglandina E2
PGF2 α	Prostaglandina F2 α
PGD2	Prostaglandina D2
PGI2	Prostaglandina I2 ou prostaciclina
Pro	Prolina
SNC	Sistema Nervoso Central
TLR	Toll-like Receptors
TNF	Fator de Necrose Tumoral
Val	Valina

SUMÁRIO

1	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	1
1.1	INFLAMAÇÃO.....	1
1.2	ENZIMAS CICLOOXIGENASE E O PROCESSO INFLAMATÓRIO.....	4
1.3	FÁRMACOS ANTI-INFLAMATÓRIOS.....	7
1.3.1	Fármacos anti-inflamatórios esteroidais.....	7
1.3.2	Fármacos anti-inflamatórios não-esteroidais.....	10
1.4.	CELECOXIBE.....	12
1.5	QUÍMICA MEDICINAL E MODELAGEM MOLECULAR NO PLANEJAMENTO DE FÁRMACOS.....	14
1.5.1	Predições das propriedades farmacocinéticas.....	18
1.5.2	Predições das propriedades toxicológicas.....	19
1.5.3	Docking molecular.....	20
2	OBJETIVOS.....	23
2.1	OBJETIVO GERAL.....	23
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	23
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	24
3.1	COMPOSTO TEMPLATE.....	24
3.2	GERAÇÃO DE BIBLIOTECA DE CONFÔMEROS.....	24
3.3	TRIAGEM VIRTUAL BASEADO NO LIGANTE CELECOXIBE.....	24
3.3.1	Similaridade de forma (programa ROCS – Rapid Overlay Chemical Structures) e potencial eletrostático (programa EON).....	24
3.4	PROPRIEDADES FARMACOCINÉTICAS E TOXICOLÓGICAS (<i>IN SILICO</i>).....	25
3.4.1	Predições farmacocinéticas.....	26
3.4.2	Predições toxicológicas.....	26
3.4.3	Estudo de docking molecular.....	27
3.4.3.1	<i>Seleção da estrutura alvo terapêutica e ligante.....</i>	<i>27</i>
3.4.3.2	<i>Docagem molecular usando AutoDock 4.2/Vina 1.1.2 via Interface gráfica Pyrx (Version 0.8.30).....</i>	<i>27</i>
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	29

4.1	TRIAGEM VIRTUAL BASEADA EM ESTRUTURA E LIGANTE.....	29
4.2	PREDIÇÕES DE PROPRIEDADES FARMACOCINÉTICAS E DE TOXICIDADE.....	30
4.2.1	Predições de Propriedades Farmacocinéticas.....	30
4.2.2	Predições de propriedades de toxicidade.....	33
4.3	DOCKING MOLECULAR.....	34
4.3.1	Validação do docking molecular.....	35
5	CONCLUSÃO.....	41
	REFERÊNCIAS.....	42
	ANEXO.....	58

1 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

1.1 INFLAMAÇÃO

A inflamação é uma reação complexa envolvendo componentes celulares e moleculares. Sendo uma resposta inespecífica a uma agressão específica. O agente responsável pela agressão pode ter natureza química, física ou biológica (QUADRO 1) (ZHOU et al., 2007; BARTON, 2008; GUO; CALLAWAY; TING, 2016; ATTIQ et al., 2018; CHEN et al, 2018).

Quadro 1. Principais fatores envolvidos no processo inflamatório

Fatores não infecciosos	Fatores Infecciosos
Físico: queimadura, ulceração, lesão física, corpos estranhos, trauma, radiação de alta intensidade	Bactérias
Químico: glicose, ácidos graxos, toxinas, álcool, substâncias irritantes químicas (incluindo fluoreto, níquel e outros oligoelementos)	Vírus
Biológico: células danificadas	Outros microrganismos
Psicológico: emoção	-----

Fonte: Adaptado de CHEN e colaboradores (2018)

Esta resposta inicial deverá eliminar ou neutralizar o responsável pela agressão. Inicialmente, o organismo aciona os mecanismos anti-inflamatórios endógenos, responsáveis pela proteção contra os danos excessivos nos tecidos e promoção da restauração da estrutura do tecido e função (LAWRENCE; GILROY, 2007; BARTON, 2008; ATTIQ et al., 2018). Eventos ordenados fazem parte da sinalização da resposta inflamatória, que são regulados por mediadores químicos pró e anti-inflamatórios (citocinas, por exemplo, são liberadas imediatamente após lesão) nos tecidos, e, envolvem várias células, dentre elas os leucócitos (BARTON, 2008; GUO; CALLAWAY; TING, 2016; ATTIQ et al., 2018). Os receptores envolvidos nesta cascata, são estruturalmente diferenciados, contudo, transdução de sinal, é o

mecanismo similar utilizado com a finalidade de recrutar, em cadeia, proteínas capazes de regular genes pró-inflamatórios para manter a resposta imune e inflamatória (LAWRENCE; GILROY, 2007; GUO; CALLAWAY; TING, 2016; ATTIQ et al., 2018).

O acúmulo e a ativação de leucócitos são as maiores desordens inflamatórias. Existe grande distância entre o controle de eventos pelo mediador químico endógeno e a resposta do hospedeiro. Estes pequenos sinais químicos regulam o tráfego de leucócitos como os sinais cardinais da inflamação – são eritema, dor, calor, edema e por vezes, perda de função da área lesionada. Estes sinais são provenientes da dilatação de arteríolas e aumento da permeabilidade vascular por ação de mediadores inflamatórios. Há o aumento do fluxo sanguíneo na área lesada produzindo calor e eritema. Com aumento da temperatura, as reações metabólicas ocorrem com maior rapidez e liberam calor adicional. O edema surge com o aumento da permeabilidade (VERGNOLLE, 2008; GUO; CALLAWAY; TING, 2016; ROGLER, 2017).

Esses efeitos são estabelecidos por eicosanoides clássicos, como as prostaglandinas e leucotrienos, que exercem importantes funções como mediadores locais e exercem expansivas ações em resposta de interesse na inflamação. Nos anos recentes, o alcance e o conjunto de mediadores químicos têm sido identificados consideravelmente. Esse conjunto inclui mediadores, citocinas (Interleucina 10, fator de crescimento β), gases (óxido nítrico – NO). (SERHAN; CHIANG, 2004).

Os mediadores da inflamação, portanto, são substâncias formadas e liberadas, concomitante ou sequencialmente, no local da lesão. A origem destes mediadores pode ser plasmática (fatores do complemento e bradicinina) ou celular (histamina, serotonina, prostaglandinas, fator ativador plaquetário (PAF), leucotrienos, citocinas, etc). Os mediadores estão envolvidos na gênese e manutenção dos eventos característicos da reação inflamatória e se ligam a receptores específicos nas células-alvo podendo, inclusive, estimular a liberação de outros mediadores (ZHOU et al., 2007).

Além disso, muitos mediadores inflamatórios provocam mudanças na excitabilidade do neurônio. Entre os mediadores envolvidos estão: histamina, serotonina, adenosina, bradicinina, citocinas (interleucina-1-beta, interleucina-6), leucotrienos, nervo de crescimento neural, prostaglandinas, óxido nítrico e mais recentemente as serinas proteases. Esses mediadores induzem despolarização da membrana, diminuição na condutância da membrana, elevação da excitabilidade ou

supressão da hiperpolarização após os potenciais de ação. Os mediadores inflamatórios provocam ativação direta sobre reflexo os nociceptores periféricos, causando hipersensibilidade imediata (VERGNOLLE, 2008; CANNON; CANNON, 2012; KAWAHARA et al., 2015).

Os principais componentes para o desenvolvimento da inflamação são: (i) vasodilatação; (ii) aumento da permeabilidade vascular; (iii) ativação e adesão celular; (iv) e coagulação (SAYERS, 2002; CANNON; CANNON, 2012). O resultado consiste devido a ativação de leucócitos que migram para o tecido e atuam contra estímulos nocivos. Isto é uma resposta benéfica e essencial para a sobrevivência, visto promover o reparo e restabelecimento do tecido lesado. Os eventos celulares envolvem a adesão de leucócitos à parede do endotélio e subsequente migração de neutrófilos para o interior dos tecidos (SAYERS, 2002; CANNON; CANNON, 2012).

Os efetores da resposta inflamatória são citocinas como o fator de necrose tumoral α (FNTF- α) e várias interleucinas (ILs). As citocinas são produzidas por uma variedade de células envolvidas na resposta inflamatória, incluindo macrófagos, neutrófilos de células endoteliais, os quais têm uma variedade de efeitos, inserindo expressão da molécula de adesão, quimiotaxia e ativação de outras vias inflamatórias (coagulação, complemento, cininas e fibrinólise). Esta resposta local é firmemente controlada pela produção de interleucinas anti-inflamatórias (IL-10) e antagonista endógeno (ATTIQ; JALIL; HUSAIN, 2017).

A ativação do NF- κ B foi relatada para induzir transcrição de múltiplos mediadores pró-inflamatórios, como o NO, ciclooxigenase-2 (COX-2), TNF- α , e interleucina 1 β (IL-1 β), os quais são envolvidos na patogenia da doença inflamatória (HUTTI et al, 2007; ATTIQ; JALIL; HUSAIN, 2017).

Devido à função crítica do fator nuclear κ B (NF- κ B) na expressão do gene inflamatório, o NF- κ B é alvo corrente no tratamento de várias doenças inflamatórias. Drogas anti-inflamatórias demonstraram inibição da expressão de citocinas inflamatórias pela inibição da via da ativação de NF- κ B (HAYDEN; GHOSH, 2004). Portanto, um inibidor do NF- κ B é uma droga terapêutica em potencial na aplicação clínica para regular a resposta imune em doença inflamatória (HUTTI et al, 2007).

A resposta imune inata, tem o início em poucos minutos e está relacionada a componentes celulares a exemplo dos macrófagos, células dendríticas, células natural killer (NK), neutrófilos e alguns mediadores como proteínas do complemento e elementos da cascata de coagulação. A resposta imune adaptativa é uma resposta

direcionada, e envolve a atuação de linfócitos e imunidade celular e humoral. A inflamação pode ser classificada em duas: inflamação aguda e inflamação crônica (QUADRO 2) (SHERWOOD; TOLIVER-KINSKY, 2004; ROGLER, 2017).

QUADRO 2. Características dos processos inflamatórios agudos e crônicos.

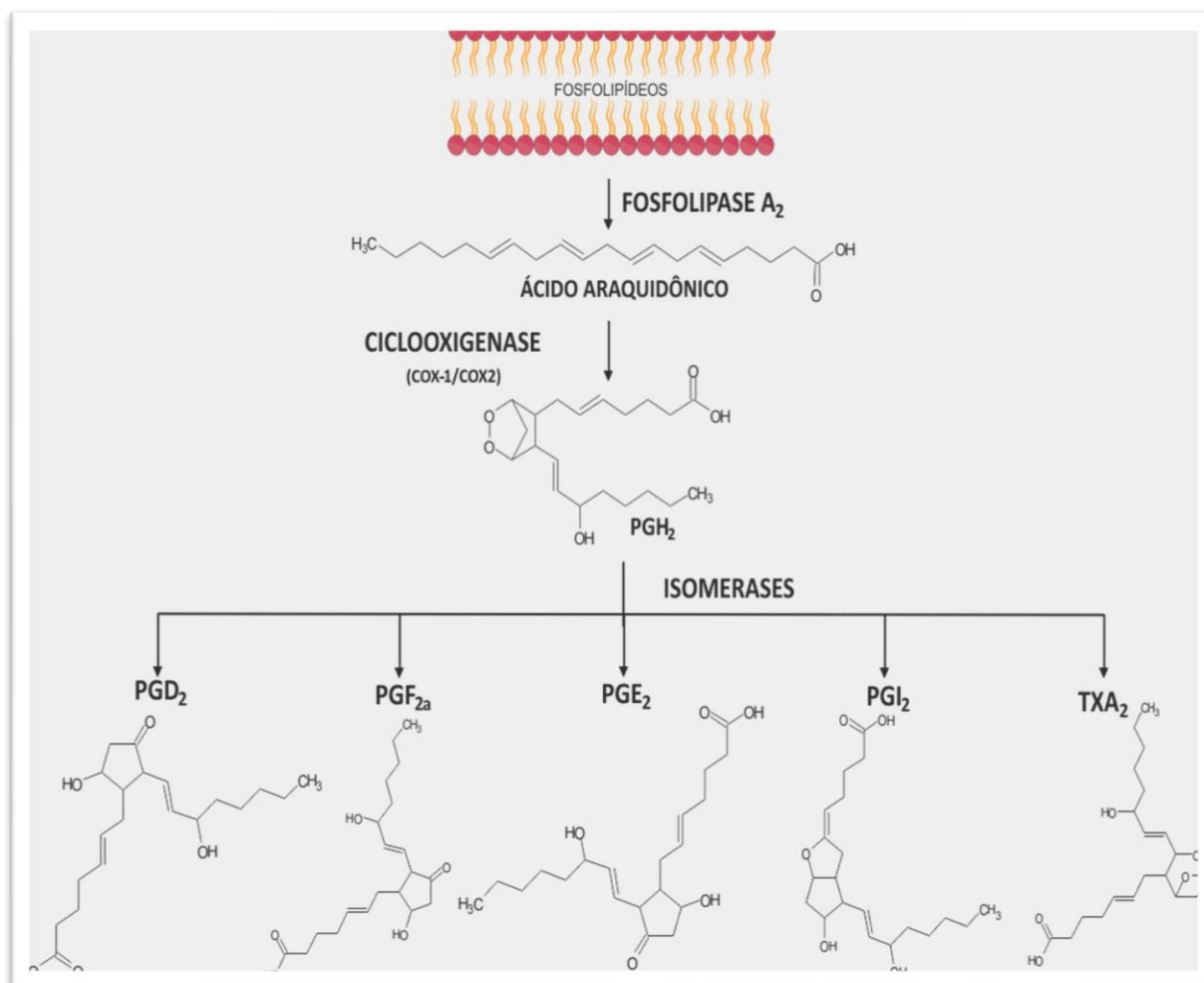
INFLAMAÇÃO	AGUDA	CRÔNICA
AGENTE CAUSADOR	• Patógenos, lesão e traumas	• Falha na resolução do processo inflamatório agudo; • Reação Autoimune
CÉLULAS ENVOLVIDAS	• Neutrófilos, células mononucleares (monócitos, macrófagos)	• Células mononucleares (monócitos, macrófagos, linfócitos, plasmócitos), fibroblastos
MEDIADORES QUÍMICOS	• Aminas vasoativas, eicosanoides e quimiocinas	• Interferon-gama (IFN-γ) e outras citocinas, fatores de crescimento, espécies reativas de oxigênio, enzimas hidrolíticas;
INÍCIO	• Rápido	• Tardio
DURAÇÃO	• Poucos dias	• Meses ou anos
DESFECHO	• Resolução • Formação de Abscesso	• Destruição tecidual • Fibrose

Fonte: Adaptado de SHERWOOD; TOLIVER-KINSKY, 2004; ROGLER, 2017.

1.2 ENZIMAS CICLOOXIGENASES E O PROCESSO INFLAMATÓRIO

Durante a reação inflamatória, há liberação de enzimas, entre as quais está a ciclooxigenase (COX) que realiza a conversão de ácido araquidônico (AA) em prostaglandinas, resultando no aumento da permeabilidade dos capilares e liberação dos macrófagos para realizar a fagocitose. Através da lipooxigenase, o AA também pode ser convertido em leucotrieno (FIGURA 1) (AIRES, 2012; GUO; CALLAWAY; TING, 2016; ATTIQ et al., 2018).

FIGURA 1. Síntese de prostanoides e receptores prostanoides. O AA é liberado dos fosfolipídios da membrana pela ação da fosfolipase A₂. O AA é então convertido em prostaglandina H₂ (PGH₂) pela ciclooxygenase (COX-1 ou COX-2), e então cada prostanóide é produzido pela ação de suas isomerase específicas.

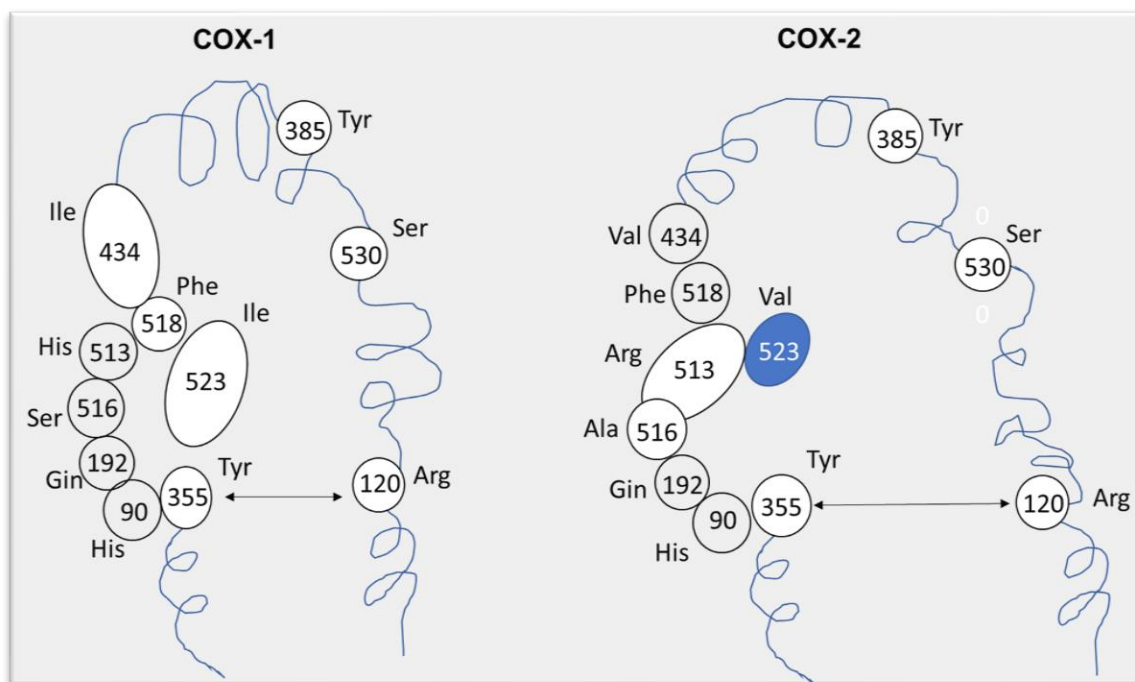


Fonte: Adaptado de SMITH et al., 2012; KAWAHARA et al., 2015; HANNA; HAFEZ, 2018.

A princípio apenas a forma da ciclooxygenase-1 (COX-1) ou isoforma “construtiva” (fisiológica) era conhecida. Porém, entre os anos de 1989 e 1991, Needleman e colaboradores (1991) postularam a existência de uma segunda forma de enzima COX, denominada de COX-2 que é ativada por estímulos inflamatórios e, que apresenta similaridades com a isoforma COX-1. Por apresentarem sua estrutura composta por 576 e 587 aminoácidos, respectivamente, COX-1 e COX-2, acabam por compartilhar identidades de sequência de 60% a 65%. A diferença entre elas reside na substituição da isoleucina na posição 523 da COX-1 por uma valina na COX-2, criando-se uma bolsa interna secundária no sítio ativo da COX-2, capaz de acomodar estruturas químicas maiores, devido ao aumento do volume do sítio ativo em

aproximadamente 25%, conforme mostra a FIGURA 2 (KNIGHTS; MANGONI; MINERS, 2010; SMITH et al., 2012).

FIGURA 2. Diferenças estruturais entre as enzimas ciclooxygenase 1 e 2



Fonte: Adaptado de KNIGHTS; MANGONI; MINERS, 2010; SMITH et al., 2012.

A COX é responsável pela metabolização do AA, onde o metabólito resultante é a prostaglandina D2 (PGD₂), sendo que esta atividade ocorre não somente em decorrência ao processo inflamatório, mas também, de forma fisiológica. Na síntese dos prostanoides, o primeiro passo é a liberação do AA dos glicerofosfolípidos presentes nas membranas celulares, por ação da fosfolipase A2, a partir desta via o AA sofre ação da COX. Ambas ciclooxygenases (COXs), são responsáveis pela síntese de prostanoides: prostaglandinas e tromboxanos (HILÁRIO; TERRERI; LEN, 2006; KNIGHTS; MANGONI; MINERS, 2010; HOHJOAL et al, 2014).

A COX-1 está presente em quase todos os tecidos (vasos sanguíneos, plaquetas, estômago, intestino, rins) e, é por isso, denominada de enzima constitutiva estando associada à produção de prostaglandinas e resulta em diversos efeitos fisiológicos, como proteção gástrica, agregação plaquetária, homeostase vascular e manutenção do fluxo sanguíneo renal (HILÁRIO; TERRERI; LEN, 2006; KNIGHTS; MANGONI; MINERS, 2010; HOHJOAL et al, 2014).

A COX-2 está presente nos locais de inflamação, sendo, por isso, denominada de enzima indutiva, comprovadamente sendo a primeira expressa por células envolvidas no processo inflamatório, como macrófagos, monócitos e sinoviócitos. Contudo, essa enzima também se encontra em outros tecidos e órgãos, como rins, cérebro, ovário, útero, cartilagem, ossos e endotélio vascular. A COX-2 é induzida pelas citocinas (ILs 1 e 2, e FNT) e outros mediadores nos sítios de inflamação (como fatores de crescimento e endotoxinas). Há relatos da descrição da ciclooxigenase-3 (COX-3), porém, ainda, sem maiores esclarecimentos (CHANDRASEKHARAN, 2002; HOHJOAL et al, 2014; HANNA; HAFEZ, 2018).

1.3 FÁRMACOS ANTI-INFLAMATÓRIOS

A inserção dos salicilatos na terapêutica por volta de 1860, o desenvolvimento do Ácido Acetilsalicílico em 1890 e as constatações dos notáveis efeitos clínicos da cortisona contribuíram para desenvolvimento das pesquisas de novos fármacos anti-inflamatórios. Após a Segunda Guerra Mundial, estudos conduzidos pelas empresas Geigy, Merck Sharpe e Dohme, Parke-Davis e Boots Pharmaceutical levaram ao desenvolvimento da indometacina e ibuprofeno (JONES, 2001; RICHY et al, 2004).

O desenvolvimento de fármacos anti-inflamatórios, marca a classe de medicamentos mais prescritos mundialmente. Este pode ser agrupado em dois períodos marcantes: o primeiro período que pode ser denominado de período pré-prostaglandina (até o início dos anos 70) e, o segundo período, onde efeitos sobre a produção de prostaglandinas faziam parte da triagem no processo de descoberta de drogas (BECK et al., 2000; CHAN; GRAHAM, 2004; RAINSFORD, 2007; FOUAD et al., 2010).

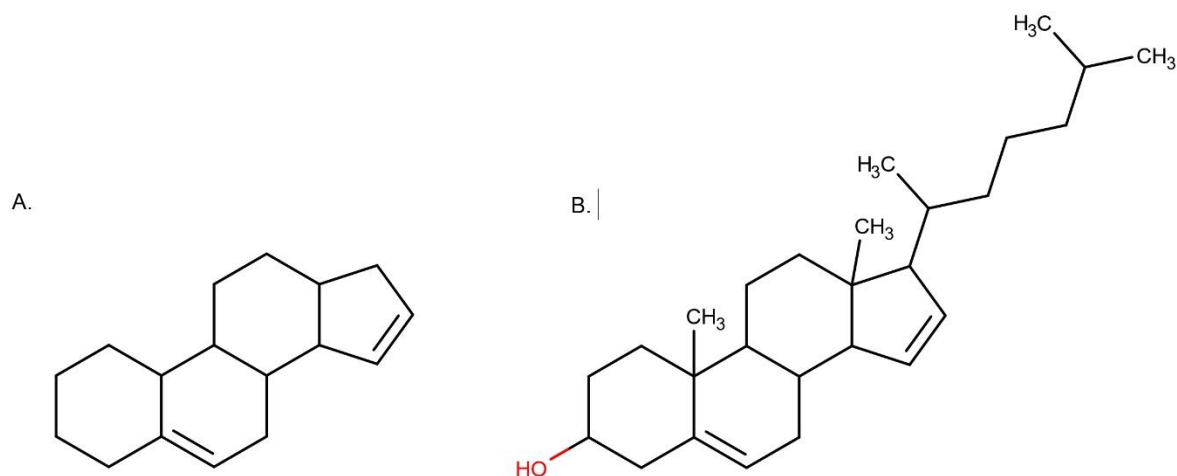
Os fármacos anti-inflamatórios podem ser classificados em duas classes distintas: os esteroidais (cortisol) e os não-esteroidais. E, são amplamente utilizados para tratar dor, febre e doenças inflamatórias, incluindo osteoartrite (FLOWER, 2003; VONKEMA; VAN DE LAAR, 2010).

1.3.1 Fármacos anti-inflamatórios esteroidais

Os fármacos anti-inflamatórios esteroidais, também conhecidos como glicocorticoides pertencem a classe de hormônios esteroides que também incluem

mineralocorticoides, andrógenos, estrogênios, progestagenos e vitamina D, ou seja, tem em sua estrutura um núcleo esteroide formado por quatro anéis com 17 átomos de carbono (FIGURA 3A) que remetem ao seu precursor, a molécula de colesterol (FIGURA 3B) (CHANG, 2014).

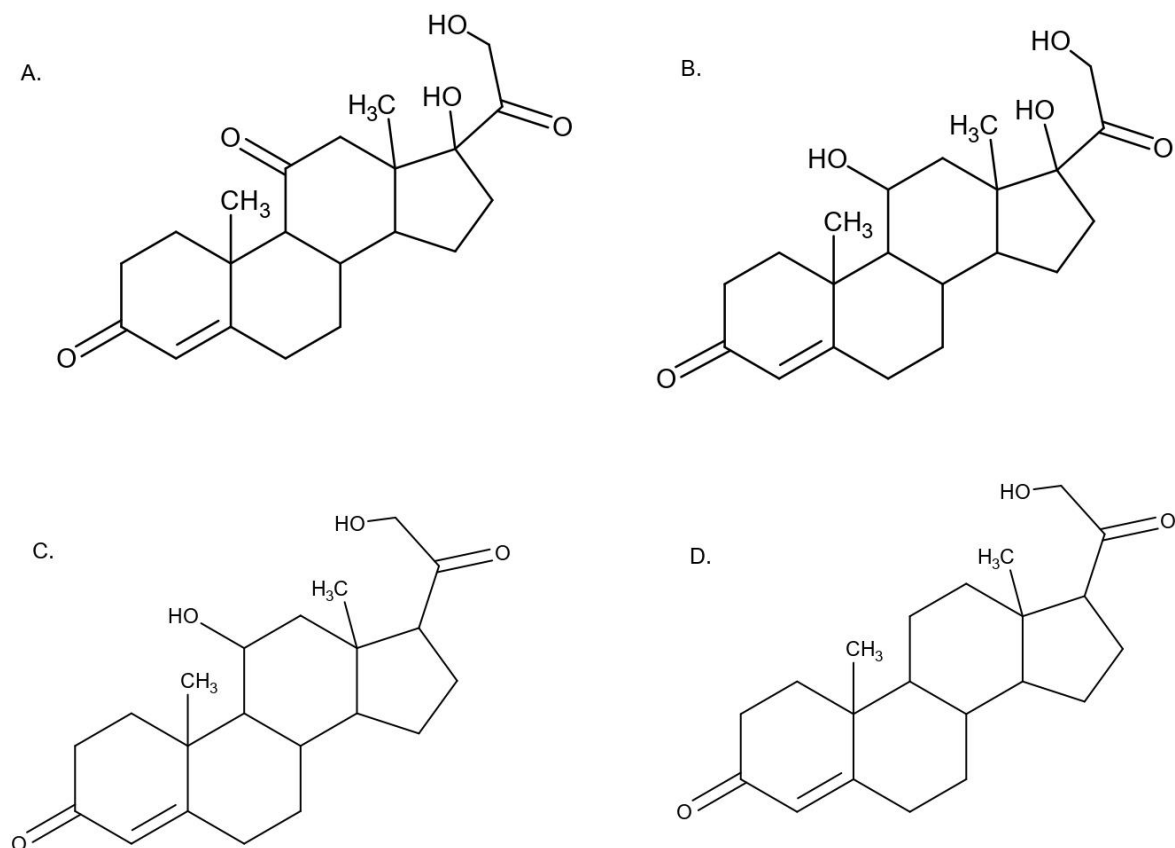
Figura 3. Estrutura química do anel peridrociclopentanofenantreno (A) e do colesterol (B)



Fonte: Adaptado de CHANG, 2014

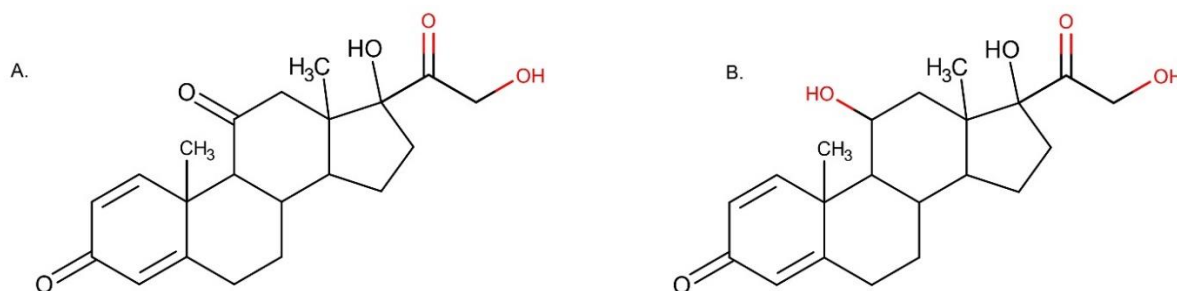
Os glicocorticoides foram isolados e, posteriormente, sintetizados pela primeira vez no final da década de 1930 por Edward Kendall e Tadeus Reichstein e, em 1940, 28 esteróides adrenais já haviam sido isolados por eles, incluindo cortisona (FIGURA 4A), hidrocortisona (cortisol) (FIGURA 4B), corticosterona (FIGURA 4C) e 11-deoxicorticosterona (FIGURA 4D). Em 1949, Philip Hench descreveu que a cortisona possuía extrema eficácia no tratamento de pacientes com artrite reumatoide e, um ano depois desta descoberta, foi atribuído a Hench, Kendall e Reichstein o Prêmio Nobel de Fisiologia e Medicina (RUBIN, 2007; TORRES; INSUELA; CARVALHO, 2012; CHANG, 2014).

Figura 4. Estruturas químicas da cortisona (A), hidrocortisona (cortisol) (B), corticosterona (C) e 11-deoxicorticosterona (D).



Fonte: Adaptado de CHANG, 2014.

Em 1950 modificações na estrutura do cortisol (FIGURA 3A) levaram ao surgimento de novos medicamentos, como prednisona (FIGURA 5A) e prednisolona (FIGURA 5B). As modificações estruturais subsequentes dos esteroides sintéticos aumentaram a potência dos glicocorticoides e, conseqüentemente, aumento do tempo de duração do efeito, obtenção de fármacos com diferentes afinidades e tempos de ligação ao receptor de glicocorticoides (GR) (CHANG, 2014).

Figura 5. Estruturas químicas da prednisona (A) e prednisolona (B)

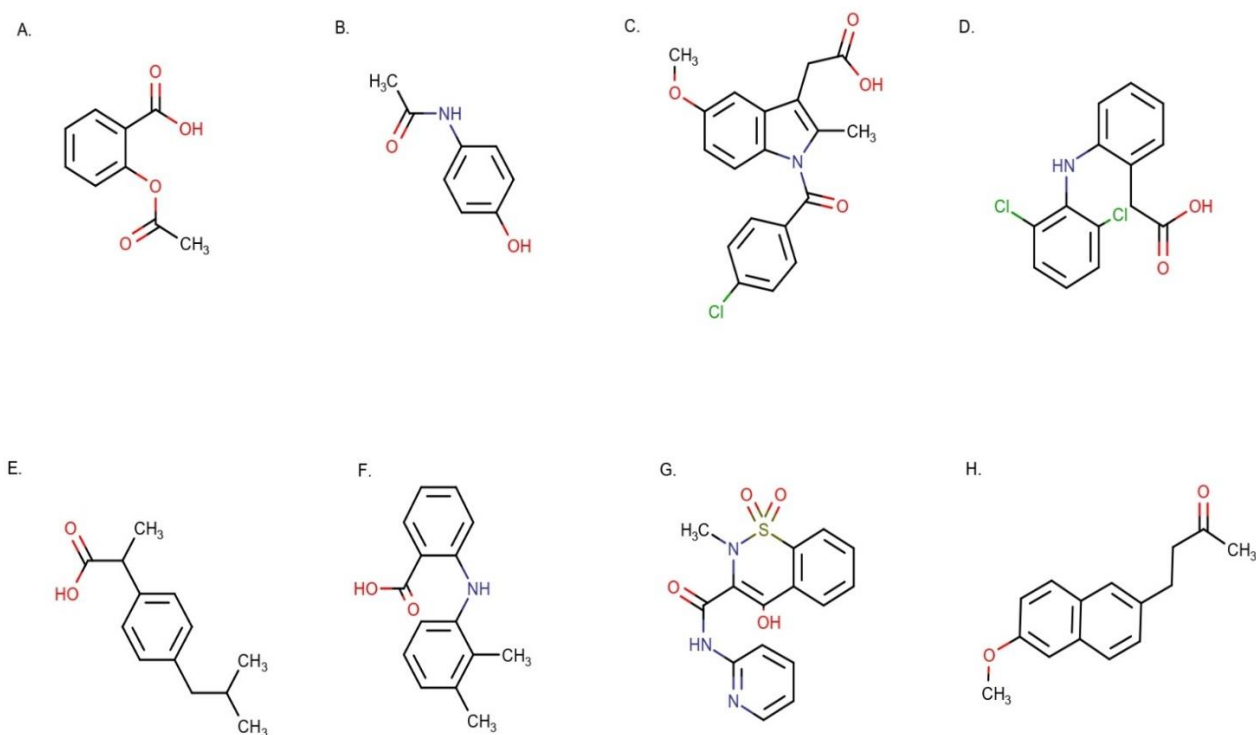
Fonte: Adaptado de CHANG, 2014.

No entanto, o uso oral dos GR de forma crônica mostrou-se limitado, uma vez que este tratamento induz diversos efeitos colaterais sistêmicos severos associados às ações catabólicas dos glicocorticoides em tecidos mesenquimais, incluindo atrofia da pele, fraqueza muscular e osteoporose (STANBURY; GRAHAM, 1998). Buscando diferenciar os fármacos esteroidais e não-esteroidais em 1965 passou-se a utilizar o termo anti-inflamatórios não-esteroidais a fim de dissociar os efeitos negativos provocados pelos glicocorticoides (BUER, 2014).

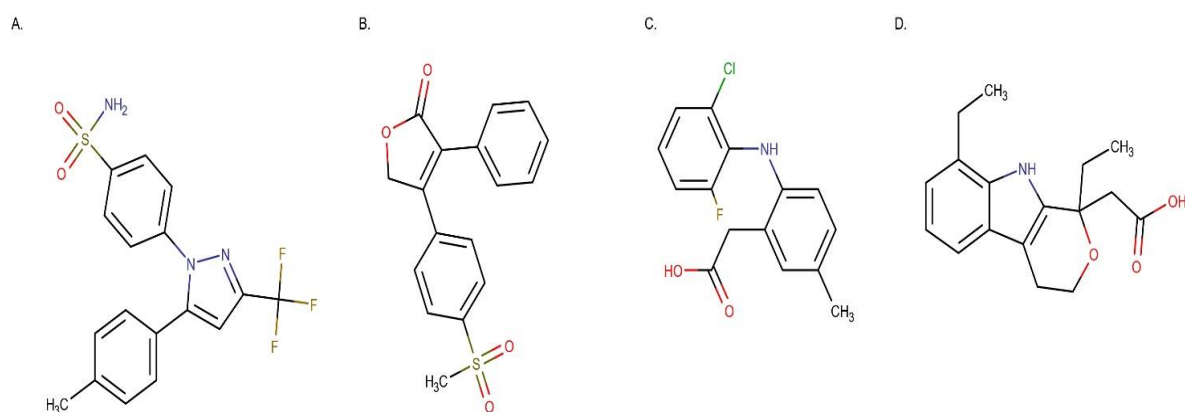
1.3.2 Fármacos anti-inflamatórios não-esteroidais

Os anti-inflamatórios não-esteroidais (AINEs) são utilizados globalmente para o tratamento terapêutico da inflamação e da dor, atuando através da inibição da COX, mediando assim, as sínteses pró-inflamatórias. No entanto, o benefício terapêutico é frequentemente restringido por efeitos adversos indesejáveis graves a nível gastrointestinal, renal e mesmo ósseo; sendo mais comuns as reações gastrintestinais, podendo ocasionar leve lesão da mucosa até hemorragia (COSTELA-RUIZ et al., 2019).

A classe dos AINEs pode ser dividida em: não-seletivos tradicionais (FIGURA 6) e os inibidores seletivos da COX-2 (FIGURA 7).

Figura 6. Estruturas químicas dos principais anti-inflamatórios não-esteroidais (AINES)

Fonte: Adaptado de RAO; KNAUS, 2008; BACCHI et al., 2012

Figura 7. Estruturas químicas dos principais anti-inflamatórios não-esteroidais (AINES) seletivos para COX-2.

Fonte: Adaptado de RAO; KNAUS, 2008; BACCHI et al., 2012

Esta divisão considera o mecanismo de ação, analisando a seletividade de inibição enzimática, conforme exemplificado no QUADRO 3. No geral, ambos são amplamente utilizados por seus efeitos anti-inflamatórios e analgésicos (RAO; KNAUS, 2008; BACCHI et al., 2012).

Quadro 3. Classificação dos AINEs de acordo com atividade inibitória sobre as isoformas COX-1 e COX-2.

Classe	Propriedades	Exemplos
Grupo 1	AINEs que inibem completamente COX-1 e 2 com pequena seletividade	Aspirina, ibuprofeno, diclofenaco, indometacina, naproxeno, piroxicam.
Grupo 2	AINEs que inibem COX-2 com 5-50% de seletividade.	Celecoxib, etodolac, meloxicam, nimesulida.
Grupo 3	AINEs que inibem COX-2 com seletividade > 50%.	Rofecoxibe
Grupo 4	AINEs que inibem fracamente ambas as isoformas (COX-1 e 2).	Ácido 5-Aminosalicílico, salicilato de sódio, nabumetona, sulfasalazina

Fonte: Adaptado de RAO; KNAUS, 2008; BACCHI et al., 2012.

Os fármacos com ação seletiva sobre a COX-2 inibem a síntese da prostaglandina I₂, a qual possui ação vasodilatadora e impede a adesão de leucócitos ao endotélio vascular. Contudo, efeitos adversos desses compostos dependem de diversos fatores, inclusive da ação relacionada à seletividade sobre as COXs. Efeitos adversos relacionados ao sangramento do trato gastrointestinal, por exemplo, estão mais relacionados à inibição predominante da COX-1, enquanto que, a inibição seletiva de COX-2 associa-se ao maior risco sobre o sistema cardiovascular, com hipertensão arterial, arritmia cardíaca e trombose cerebral, principalmente quando utilizado por longos períodos, a exemplo do tratamento de inflamação crônica (FLOWER, 2003; CLARCK; LAYTON; SHAKIR, 2004; BACCHI et al., 2012).

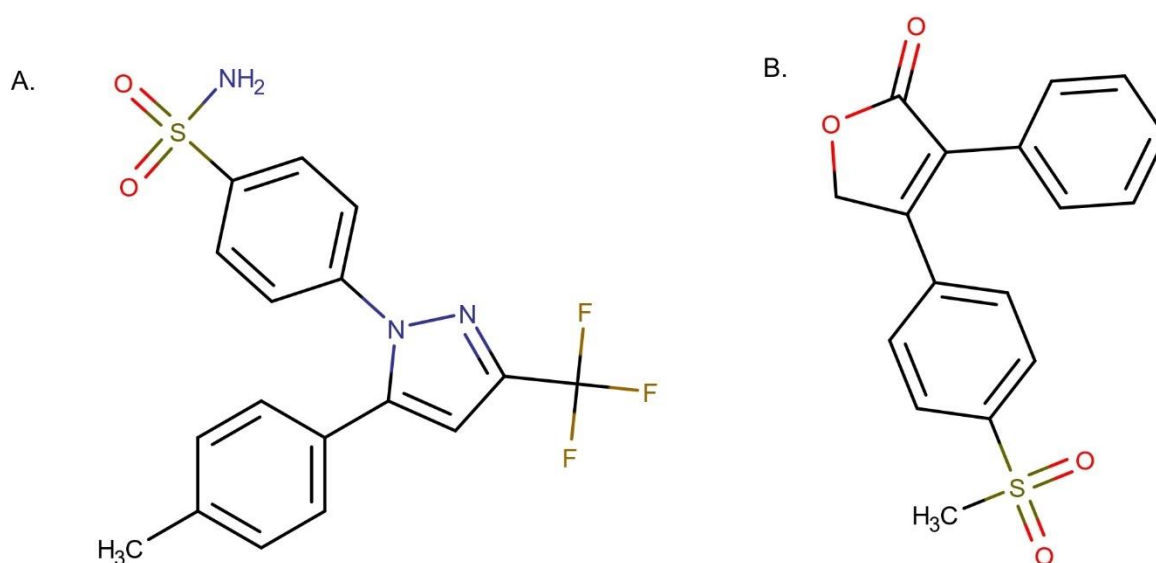
1.4 CELECOXIBE

A descoberta da isoforma COX-2 em 1991, forneceu o estímulo para desenvolver fármacos que possam evitar ou minimizar os danos gastrointestinais (GI) causados devido à inibição da COX-1, mantendo os efeitos anti-inflamatórios benéficos (pela inibição da COX-2). Esta ação seletiva prometeu superioridade em comparação com o AINEs tradicionais, como ibuprofeno, naproxeno e indometacina,

que promovem complicações gastrointestinais (HERMANN; RUSCHITZKA, 2006; MICHAUX; CHARLIER, 2012; DADIBOYENA; HAMME II, 2012).

As principais empresas farmacêuticas responderam à descoberta da COX-2 e no início dos anos 2000, então a primeira geração de drogas seletivas para COX-2, posteriormente denominadas coxibs, foram lançados, projetados especificamente para bloquear o site ativo de COX-2, mas não COX-1. Seus representantes iniciais foram o celecoxibe (Celebra) e rofecoxibe (Vioxx) (FIGURA 8) (HERMANN; RUSCHITZKA, 2006; MICHAUX; CHARLIER, 2012; DADIBOYENA; HAMME II, 2012).

Figura 8. Estrutura química do Celecoxibe (A) e rofecoxibe (B)



Fonte: Autora da pesquisa, 2020

Os estudos haviam mostrado efeitos anti-inflamatórios semelhantes aos de outros AINEs e menos efeitos gastrintestinais. Assim como outros inibidores específicos de COX-2, a especificidade do celecoxibe se dá por conta da diferença de tamanho do canal que forma o sítio ativo das COXs, os AINEs que bloqueiam COX-2 não se encaixam de forma ideal no sítio da COX-1 e desta maneira não inibem esta última de forma significativa, consequentemente as prostaglandinas constitutivas continuam exercendo seu papel de forma ativa (LUO; HE; BOHLIN, 2005).

Mesmo com os benefícios dos AINEs seletivos COX-2, o uso em larga escala acarretou na maior expressão dos efeitos colaterais, como os problemas cardiovasculares, que resultou, por exemplo, na retirada do fármaco rofecoxibe do mercado. Apesar das reações adversas (cardiovascular, renal, óssea e mesmo

hepática), o celecoxibe ainda é comercializado devido à menor seletividade por COX-2 quando comparado aos outros fármacos COX-2-seletivos (THOMAS, 2020).

1.5 QUÍMICA MEDICINAL E MODELAGEM MOLECULAR NO PLANEJAMENTO DE FÁRMACOS

Desde os primórdios da civilização, a procura de uma terapêutica para as principais patologias que afetam a humanidade tem sido uma preocupação constante. Antigas civilizações buscavam a cura através de conhecimento empírico, também conhecido como conhecimento popular, geralmente, empregando as plantas ou partes destas como seus remédios. Enquanto o conhecimento e tecnologia eram limitados, pouco se pôde planejar estrategicamente. A partir da compreensão do organismo humano, o avanço para o tratamento de várias patologias foi significativo (CALIXTO; SIQUERIA, 2008; PICCIRILLO; AMARAL, 2018).

O processo de planejamento e o desenvolvimento de novos fármacos envolvem diversas áreas do conhecimento e tipos de ensaios, tornando-se complexo. Por este motivo, o espaço químico precisa ser reduzido (PHRMA, 2011; TERFLOTH; SPYCHER; GASTEIGER, 2018). Os altos custos financeiros e o alto tempo demandado para a produção de medicamentos são fatores preocupantes para o crescimento da indústria farmacêutica, que necessita de investimentos em Pesquisa e Desenvolvimento (P&D) para a descoberta de novos fármacos com maior eficácia e seletividade, tornando assim, a descoberta de fármacos uma atividade extremamente complexa. Estima-se um gasto entre 800 milhões a 1,4 bilhões de dólares e cerca de 12-15 anos para o desenvolvimento de um novo fármaco (GELDENHUYS et al, 2006; LIMA, 2007; KAITIN; DIMASI, 2011; MORGAN et al., 2011; TERFLOTH; SPYCHER; GASTEIGER, 2018).

Assim, com intuito de otimizar o tempo e reduzir os custos, novas técnicas são fundamentais para a indústria farmacêutica, para isso a utilização de inovações científicas e tecnológicas, como ferramenta de pesquisa, combinando conhecimentos multidisciplinares de informática, biotecnologia, química e biologia, refletem no planejamento de novos fármacos (DREWS, 2000; DREWS, 2003; PICCIRILLO; AMARAL, 2018).

Ciências farmacêuticas, medicina e biologia estão envolvidas diretamente nos aspectos da química medicinal (QM), visto que, rotineiramente, são de sua

incumbência: a descoberta, o planejamento, o desenvolvimento e a identificação de compostos biologicamente ativos, o estudo do metabolismo, interpretação do modo de ação a nível molecular e o desenvolvimento de relações entre a estrutura química e a atividade biológica com ênfase em fármacos, resultando em um modelo que se baseiam no conhecimento de um alvo molecular e planejamento racional de fármacos. (LIMA, 2007; IMMING, 2008; NOGUEIRA; MONTANARI; DONNICI, 2009 WERMUTH, 2011).

A área de QM tem mostrado cada vez mais trabalhos significativos, os quais intensificaram-se a partir do ano 2000. Contudo, no período de 1950-1980, já eram utilizadas estratégias de modificação molecular, e, mais precisamente, entre as décadas de 60 e 70, ocorreram avanços importantes, como a determinação de estruturas protéicas por difração de raios-X, produção do computador com acesso múltiplo (molde do PDB – Protein Data Bank), fortalecimento da farmacologia e aplicação das estratégias de modificação molecular, culminando na descoberta do captopril – primeiro fármaco no qual a estratégia “descoberta baseada na estrutura” foi empregado (LIMA, 2007 RODRIGUES et al, 2012; BERMAN ET AL, 2013; PICCIRILLO; AMARAL, 2018).

Além disso, a introdução de técnicas e recursos computacionais permitiram a visualização e o estudo de proteínas e ligantes, o que revolucionou todo o processo de planejamento, desenvolvimento e inovação de novos fármacos. O conhecimento da estrutura do alvo molecular ou do complexo ligante-alvo permite o planejamento e desenvolvimento de inibidores enzimáticos ou agonistas/antagonistas de receptores, através do processo de complementaridade molecular (estéreo/eletrostática). Neste processo, planeja-se um candidato com propriedades estruturais adequadas para o reconhecimento molecular e aumento da afinidade pelo receptor biológico, tendo como grande aliada a biologia molecular para o planejamento e desenvolvimento de novos fármacos (PANCOTE, 2009; PICCIRILLO; AMARAL, 2018).

A modelagem molecular consiste na investigação das estruturas e suas propriedades, reunindo um conjunto de técnicas computacionais que possibilitam a construção, a visualização, a manipulação e a estocagem de modelos moleculares tridimensionais. A modelagem molecular permite a análise conformacional, o cálculo de propriedades estereo-eletrônicas e a análise de variações estruturais que auxiliam na interpretação das correlações entre as estruturas químicas de uma série de compostos com a variação da atividade farmacológica, sendo de grande importância

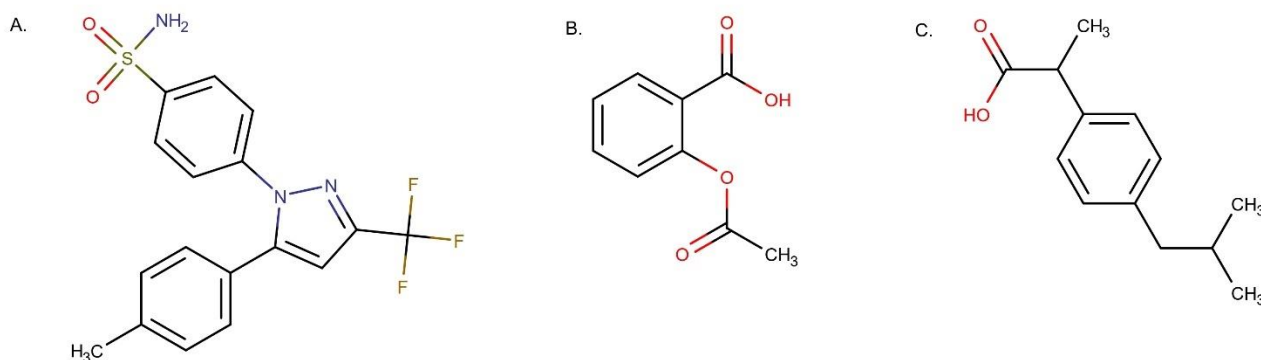
no planejamento de fármacos (YOUNG, 2001; SANT'ANNA, 2002; SANTOS et al, 2014).

Para a produção e descoberta de novos fármacos, a modelagem molecular é ferramenta fundamental, bem como na otimização de protótipos existentes e desenho racional de candidatos a fármacos (SANTOS et al, 2014).

Estudos envolvendo a relação estrutura-atividade (Structure-Activity Relationship - SAR) de uma série de compostos são essenciais na avaliação da atividade e na seletividade, além de guiar a síntese de novas moléculas, minimizando o universo de compostos a serem testados, pois uma vez conhecida a estrutura do receptor eleito, pode-se planejar uma molécula que seja capaz de interagir com o receptor. Para as etapas seguintes da P&D de um novo fármaco, parâmetros farmacocinéticos como absorção, distribuição, metabolismo, excreção (ADME) e toxicológicos, devem ser considerados na fase preliminar de desenvolvimento de fármacos e devem ser empregados para eliminar candidatos inadequados, reduzindo os custos da P&D (YOUNG, 2001; AMARAL; MONTANARI, 2002; SACKS et al., 2014).

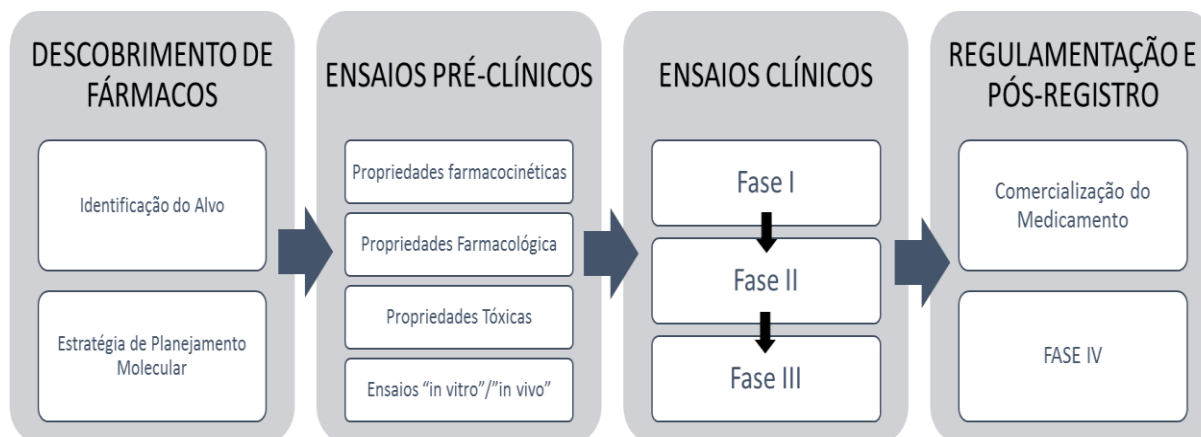
No processo de descoberta e desenvolvimento de novos fármacos a taxa de sucesso de novos candidatos selecionados para desenvolvimento clínico é de aproximadamente 20%, com a maioria das dificuldades atribuídas a propriedades farmacocinéticas inviáveis (SACKS et al., 2014; WANG et al., 2015). Propriedades como baixa taxa de absorção, altas taxas de extração hepática (EH) e *clearance* hepático (CLH) - que ocasionam baixa e variável biodisponibilidade; interações medicamentosas e metabolismo realizado por enzimas polimórficas, podem ser previstas nos estudos de metabolismo *in silico*, proporcionando direcionamento para os posteriores estudos clínicos (MINERS et al., 2004; WANG et al., 2015).

O anti-inflamatório celecoxibe (FIGURA 9A), é um exemplo de medicamento originado de estratégias de otimização molecular, visto que com a compreensão dos mecanismo envolvidos na descobrimento e caracterização da isoenzima COX-2 e a compreensão dos mecanismos envolvidos, possibilitou a inserção de grupos sulfonamida ou sulfona e sem um grupamento carboxílico presentes em anti-inflamatórios como ácido acetilsalicílico (FIGURA 9B) e ibuprofeno (FIGURA 9C) (FLOWER, 2003; RAINSFORD, 2009; BUSHRA; ASLAM, 2010; BORGES et al., 2018).

Figura 9. Estruturas do Celecoxibe (A), Ácido Acetilsalicílico (B) e Ibuprofeno (C)

Fonte: Autora da pesquisa, 2020

A descoberta e desenvolvimento de fármacos é um processo dividido em duas grandes fases: I - Pré-clínica (descoberta ou pesquisa básica) e II – clínica (desenvolvimento) (FIGURA 10). As etapas de identificação, otimização e estudos de relação estrutura-atividade de moléculas concentram-se na fase pré-clínica (VAN NORMAN, 2016). A QM é o ponto de intersecção entre planejamento e otimização de novas moléculas com atividade biológica. A partir da química medicinal é possível explorar o espaço químico delineando o trabalho investigativo na identificação, seleção e otimização de moléculas aptas a interagir de forma eficaz, com alta afinidade e seletividade em relação ao alvo molecular (GUIDO; ANDRICOPULO, 2008; PICCIRILLO; AMARAL, 2018). Assim, o objetivo é agilizar a descoberta de um novo fármaco, reduzindo o tempo gastos nas etapas iniciais desse processo (TERFLOTH; SPYCHER; GASTEIGER, 2018).

Figura 10. Etapas da descoberta e desenvolvimentos de fármacos.

Fonte: Adaptado de TERFLOTH; SPYCHER; GASTEIGER, 2018.

1.5.1 Predições das propriedades farmacocinéticas

As propriedades farmacocinéticas e a toxicidade dos compostos são as principais razões para que se encerre o desenvolvimento de candidatos a fármacos, sendo de suma importância os parâmetros de absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicológico (ADMET) (GUPTA; MOHAN, 2014). Algumas propriedades farmacocinéticas dos compostos incluem: o peso molecular, a área de superfície polar (PSA), coeficiente de partição O/A (logP), coeficiente de partição cérebro/sangue (logBB), porcentagem de absorção oral humana (%AOH), atividade predita no sistema nervoso central (CNS), permeabilidade aparente em células Caco-2 (modelo de permeabilidade intestinal). Para diminuição de custos e tempo investidos nesse estágio inicial, requer a utilização de estudos computacionais como um meio de triagem de moléculas inviáveis para ADMET, restando apenas as mais promissoras (SCHRODINGER, 2011; WANG et al., 2015).

Com a inclusão de considerações farmacocinéticas em estágios iniciais dos programas de descoberta de medicamentos (Hodgson 2001; Navia e Chaturvedi 1996), a utilização de métodos baseados em computador está se tornando cada vez mais popular visto que as abordagens *in silico*, apresentam: custo relativamente menor e diminuição do tempo de análise, quando comparada às abordagens experimentais para avaliação dos perfis ADMET (DiMasi et al. 2003; Darvas et al. 2002). Como exemplo, leva apenas um minuto em um modelo *in silico* para rastrear 20.000 moléculas, mas levam 20 semanas no laboratório para fazer o mesmo exercício (Hodgson, 2001).

Um fator de limitação no desenvolvimento de novos fármacos está associado as propriedades farmacocinéticas (ADME) dos candidatos a fármacos, pois um medicamento para causar um efeito precisa chegar ao seu sítio de ação e um fator que influencia está relacionado as suas propriedades farmacocinéticas. A principal via de administração de um fármaco é a oral. No entanto, um medicamento administrado por via oral encontra mais barreiras para atingir seu objetivo do que aqueles que utilizam outras vias de administração, como a via intravenosa (CUNHA, 2015).

Um medicamento administrado por via oral deve primeiramente atravessar a barreira estomacal ou intestinal. Se estiver na forma sólida, o medicamento deve ser dissolvido com a ajuda dos sucos gástricos do estômago. Segundo o medicamento deve atravessar a barreira das células epiteliais intestinais para entrar na corrente

sanguínea. Finalmente, o medicamento livre na corrente sanguínea penetra em várias camadas da membrana lipídica para atingir seu objetivo. O que pode acarretar em uma baixa e variável taxa de biodisponibilidade (BASIL; LEVY, 2016).

A “regra dos cinco” de Lipinski fornece uma estimativa da biodisponibilidade dos compostos selecionados através das propriedades físico-químicas. De acordo com a regra de Lipinski é proposto que um composto para ser administrado por via oral e ser bem absorvido necessita se adaptar aos seguintes parâmetros físico-químicos: logP inferior a 5 (cinco), PM (peso molecular) inferior a 500 Da, doadores de ligação de hidrogênio (DLH) inferior a cinco (5) grupos e aceptadores de ligação de hidrogênios (ALH) inferior a dez (10). Sendo parâmetros que podem ser calculados utilizando o programa Qikprop, o qual realiza previsões farmacocinéticas. (LIPINSKI et al, 2001; WANG et al., 2015).

1.5.2 Predição de propriedades tóxicológicas

O desenvolvimento de novos fármacos através da utilização de técnicas computacionais, representa uma complementação *in silico* à química medicinal auxiliando no estudo da estrutura, previsão da atividade biológica de candidatos a fármacos, pois pode contribuir na diminuição no tempo de seleção de compostos e no custo (HUANG et al, 2010; ORCHARD et al, 2011; GFELLER et al 2013; WANG et al., 2015; FOROUZESH et al, 2018).

Como a maioria das moléculas bioativas interagem com proteínas ou outras macromoléculas e, para uma fração significativa deles, o alvo primário permanece desconhecido é importante que durante a fase de seleção e desenvolvimento de novos fármacos seja realizada predição de atividade biológica a fim de se conhecer o possível sítio de ação (HUANG et al, 2010; ORCHARD et al, 2011; GFELLER et al 2013; FOROUZESH et al, 2018). Assim, a atividade biológica dos compostos pode ser predita através da utilização de base de dados como por exemplo, *Molinspiration* (<http://www.Molinspiration.com>), onde as estruturas dos compostos são comparadas com as através de similaridade das estruturas.

Para predizer a toxicidade de um fármaco, ou ainda, se sofrerá algum tipo de biometabolismo até chegar ao seu alvo receptor, propriedades como absorção, distribuição e toxicidade podem ser preditas a partir da triagem em bancos de dados contendo essas informações, as quais são computadas para uma grande variedade

de compostos (TESTA et al, 2005; WINIWARTER et al., 2018). Entre os programas mais utilizados para esses fins, destaca-se o DEREK.

Este programa faz previsões de forma qualitativa e, dessa forma, gera alertas sobre a possível ação tóxica dos compostos químicos por ele analisados. O sistema é capaz de interpretar subestruturas toxicofóricas presentes nos compostos como possíveis indutoras de certos tipos de toxicidade, através das regras de correlação implementadas no programa, operando em duas linguagens diferentes: na primeira, que é mais simples, faz uso do número de átomos e ligações para definir o grupo toxicofórico; na segunda, que é mais complexa, consegue responder questões a respeito da estrutura do grupo químico analisado (SANDERSON; EARNSHAW, 1991; RINDINGS; BARRATT; CARY, 1996; LHASA LIMITED, 2007).

O programa DEREK pode prever irritação gástrica, hepatotoxicidade, carcinogenicidade, mutagenicidade e sensibilização da pele para os compostos investigados (SILVA et al, 2015) e, assim, fornecendo a adoção de critérios de exclusão para substâncias potencialmente nocivas que estejam em fase de seleção para as sínteses de compostos e ensaios experimentais. Após as várias etapas de triagem virtual baseado em ligante e baseado em estrutura podem ser analisados. Como resultado, o programa DEREK indica uma resposta tóxica específica que pode ocorrer. Este programa não fornece uma estimativa quantitativa de predição, ao invés disso ele possui algumas regras básicas que consistem de descrições das subestruturas moleculares como se fossem alerta estruturais que estão associados a grupamentos tóxicos, ou seja, uma vez que uma subestrutura pode existir em uma variedade de contextos moleculares, as regras básicas não são quimicamente específicas, ao invés disso, servem como generalizações amplas no que diz respeito à estrutura química. Portanto, o planejamento de fármacos baseado na estrutura do ligante é realizado através de análises comparativas de estruturas bioativas como busca por similaridade, que identificam e classificam compostos como similares ou diferentes relacionados a um ligante (WILLETT, 2006).

1.5.3 Docking molecular

O estudo de docking é uma das técnicas da modelagem molecular mais importantes no desenvolvimento de fármacos. Trata-se de um estudo de interação energética entre o ligante e o receptor utilizando campo de força. Entretanto, a

interação do fármaco ao receptor é um problema complexo, visto que, inúmeras forças são envolvidas, tais como: eletrostáticas, eletrodinâmicas e estéricas, assim como a interação com o solvente e os graus de flexibilidade das moléculas são também fatores importantes a serem consideradas (COHEN, 1990; MCCONKEY; SOBOLEV; EDELMAN, 2002).

A interação do fármaco ao receptor é estereoespecífica, em que o receptor reconhece determinados grupos do ligante, assim como distâncias interatômicas e forma molecular. Este tipo de interação é determinado por meio do ajuste do ligante no sítio do receptor via conformação de menor energia. Geralmente, o receptor é mantido rígido enquanto a conformação da molécula é modificada, embora existam métodos de ligantes rígidos com receptores rígidos. Devem-se considerar todos os graus de liberdade da molécula (rotacionais e translacionais). A conformação preferida é então minimizada, entretanto, esta conformação pode não corresponder com a conformação bioativa (BURSULAYA et al, 2003; COHEN, 1990).

O processo de docking consiste em três componentes correlacionados: a identificação do sítio de ligação, a pesquisa de um algoritmo eficiente e uma função de contagem. O sítio de ligação pode ser identificado por comparação com a proteína co-cristalizada com ligante diferente (PANCOTE, 2009).

Os algoritmos de pesquisa podem gerar um número elevado de configurações, as quais são avaliadas por funções de contagem. Os algoritmos de pesquisa incluem: dinâmica molecular (utiliza equações de movimento de Newton para cálculo de soluções); método de Monte Carlo (simula estruturas moleculares por meio de processos aleatórios e randômicos); algoritmo genético (codifica variáveis de graus de liberdade, criando populações randômicas, de tamanhos constantes); método baseado no fragmento (fragmenta o ligante, liga cada fragmento separadamente ao receptor e liga-os novamente); método de pontos complementares (baseado na avaliação do contorno e/ou da complementariedade química entre interações moleculares); método de distância geométrica (baseia-se nas distâncias intra e intermoleculares); pesquisa Tabu (baseia-se em processos estocásticos nos quais novas conformações randômicas são geradas, partindo de conformações iniciais); pesquisa sistemática (analisa todas as conformações possíveis, partindo de modelos rígidos) (MCCONKEY; SOBOLEV; EDELMAN, 2002; PANCOTE, 2009).

O campo de força é utilizado para calcular a energia e a geometria da molécula, a qual é obtida pela soma de todas as interações de forças envolvidas. Geralmente,

são empregados para gerar previsões precisas para complexo ligante-receptor por meio da interpolação e extrapolação relativas a modelos experimentais simples. Os modelos clássicos de campo de força incluem: AMBER (utilizado especialmente para macromoléculas biológicas), CHARMM (utilizado em dinâmica molecular) e CVFF (utilizado principalmente em materiais orgânicos para prever estruturas e energias de ligação) (BISSANTZ; FOLKERS; ROGNAN, 2000; TAYLOR; JEWSBURY; ESSEX, 2002). Vários programas são utilizados dentre eles destacam-se Autodock, Dock, FlexX e Gold (BISSANTZ; FOLKERS; ROGNAN, 2000).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Identificar *in silico* potenciais candidatos a fármacos com atividade anti-inflamatória a partir do celecoxibe.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Selecionar a pose da conformação bioativa do ligante do celecoxibe;
- b) Gerar biblioteca de confômeros de 06 (seis) bases de dados comerciais;
- c) Executar triagem virtual baseado no ligante do Celecoxibe por similaridade de forma e potencial eletrostático nas bases comerciais;
- d) Predizer *in silico* as propriedades farmacocinéticas das estruturas selecionadas no item “c”;
- e) Determinar *in silico* as propriedades toxicológicas das estruturas selecionados no item “d”;
- f) Realizar estudos de simulação de docking molecular das estruturas selecionadas no item “e” com a ciclooxigenase-2 em organismo *mus musculus*;

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 COMPOSTO TEMPLATE

O banco de dados Protein Data Bank (PDB, <http://www.rcsb.org/pdb>), é um repositório mundial online, de livre acesso às estruturas tridimensionais de macromoléculas, como proteínas, enzimas, cadeias de ácidos nucleicos, elucidadas por estudos de cristalografia de raios-X, Ressonância Magnética Nuclear (RMN) ou modelagem por homologia, e, foi utilizado para a seleção do composto *template* celecoxibe, depositado com o código PDB 3LN1 (*mus musculus*), com pose cristalográfica ligada a enzima COX-2 para camundongos (cCOX-2) (KIEFER et al., 2010; BERMAN et al, 2013; GOODSELL, 2016).

3.2 GERAÇÃO DE BIBLIOTECA DE CONFÔMEROS

Estudos computacionais de modelagem molecular em larga escala foram realizados utilizando o OpenEye Scientific Software, em um computador com o processador Intel Core i7 de 2,4 GHz usando o sistema operacional Windows 7 Professional. Inicialmente, os conjuntos de estruturas moleculares em formato “.sdf” (*site definition file*) foi obtido do banco de dados *DrugBank*. Foi gerada uma biblioteca de confômeros para cada molécula dos conjuntos de estruturas das bases de dados usando o programa OMEGA (versão 2.1.0). Através de algoritmo, as moléculas foram fragmentadas e realocadas de forma que puderam gerar várias conformações possíveis, sendo avaliada a energia de forma simplificada – até 9 kcal/mol – e um desvio médio quadrático da raiz de coordenadas atômicas (RMSD) de 0,6 Å; aqueles que se enquadraram nos parâmetros, foram agrupados. (COSTA et al, 2019; SILVA et al, 2018). A biblioteca de confômeros foi empregada para início dos métodos de triagem virtual entre o ligante e alvo.

3.3 TRIAGEM VIRTUAL BASEADO NO LIGANTE CELECOXIBE

3.3.1 Similaridade de forma (programa ROCS – Rapid Overlay Chemical Structures) e potencial eletrostático (programa EON)

Neste estudo foram utilizadas seis bases do banco de dados: ZINC Drug Database, ZINC Natural Stock, ZINC Drug_FDA_BindingDB (são subcoleções da

ZINC Database – <http://www.zinc.org>); Chembridge DIVERSet™-EXPRESS-Pick™ Collection (DIVERSet™-EXP), Chembridge DIVERSet CORE Library (DIVERSet™-CL) (são subcoleções da Chembridge); Maybridge. As bases de dados foram usadas para selecionar as estruturas por meio da triagem virtual, classificando as moléculas com base na sua similaridade por forma com a molécula de referência usando um algoritmo (funções de Gaussian) centrado no átomo para permitir a maximização rápida da sobreposição molecular (volume e características atômicas), denominado “ComboScore”, implementado no software ROCS (<https://www.eyesopen.com/rocs>), gerando pontuações das sobreposições tridimensionais do banco de dados com o composto template, a fim de buscar os melhores compostos para o receptor COX-2. Para quantificar a similaridade entre duas moléculas o coeficiente de Tanimoto foi usado para a comparação e pode variar de 0,0 a 1,0 – com valor 1,0 representando uma correspondência exata. (NAYLER et al. 2009; MANTOANI et al, 2014; SILVA et al, 2018; RAMOS et al, 2019; COSTA et al, 2019). E assim, foram obtidas as melhores estruturas classificadas, “Top2000” de cada base, totalizando 12.000 estruturas.

Os melhores compostos (12.000), com pontuação Tanimoto maior do que 0,7, foram reclassificados usando o programa EON designado para calcular correlações eletrostáticas de moléculas pré-alinhadas. A classificação das moléculas foi feita utilizando a “Pontuação Combo eletrostática Tanimoto” (ET_combo) que é a soma do “coeficiente eletrostático de Tanimoto Poisson-Boltzmann” (ET_pb) e a “Forma Tanimoto” (FT), ou seja, baseada nas pontuações eletrostáticas de Tanimoto, que varia de um (idêntico) a valores negativos resultantes da sobreposição de valores positivos e negativos. Neste estudo, um confômero do celecoxibe de menor energia foi usado para realizar as comparações eletrostáticas (conformação mais rígida, com base na estrutura cristalográfica disponível). No final, somente as “Top100 melhores moléculas/base” foram selecionadas, totalizando 600 estruturas (OPENEYE SCIENTIFIC SOFTWARE, 2009; NAYLER et al. 2009; MANTOANI et al, 2014; SILVA et al, 2018; RAMOS et al, 2019; SILVA et al, 2019).

3.4 PROPRIEDADES FARMACOCINÉTICAS E TOXICOLÓGICAS (*IN SILICO*)

Os estudos farmacocinéticos e toxicológicos foram realizados para compostos resultantes da etapa de triagem virtual (Top 100) de cada base, com melhores valores com base no composto Celecoxibe.

3.4.1 Predições farmacocinéticas

As estruturas químicas das moléculas selecionadas na etapa anterior, foram submetidas ao software QikProp para obter as propriedades farmacocinéticas: #star, “Regra dos Cinco de Lipinski – RO5”, (%OAH), QPPCaco-2, QPPMDCK, QPlogPo/w, CNS e QPlogBB. Após este filtro, restaram 220 moléculas de interesse.

O QikProp é um programa rápido e preciso para a predição de propriedades físico-químicas como absorção, distribuição, metabolismo e excreção. Além de prever propriedades moleculares, apresenta faixas de comparação entre as propriedades da molécula ou composto que se está analisando com 95% dos fármacos conhecidos e utilizados como referência. Dentre as propriedades calculadas pelo programa, pode-se destacar aquelas cujos melhores valores para a penetração da barreira hematoencefálica já foram relatadas na literatura. As propriedades físico-químicas de interesse são: peso molecular que deve ser menor do que 450 Da, área de superfície polar que deve ser menor do que 90Å, coeficiente de partição óleo/água (LogPo/w) de aproximadamente 2,5 e coeficiente de partição cérebro/sangue (LogBB) maior do que -0,5 (JEFFREY; SUMMERFIELD, 2010).

Os parâmetros gerados pelo software nos permitiram selecionar os candidatos à fármaco com 95% de aproximação das características farmacocinéticas do fármaco já conhecido e utilizado como referência (SILVA et al, 2018). As moléculas

3.4.2 Predições das propriedades de toxicidade

Para identificar quaisquer propriedades tóxicas indesejáveis das 220 moléculas restantes, o servidor de previsão de toxicidade (Protox - <http://tox.charite.de/tox/>) foi utilizado neste estudo (DRWAL et al, 2014) Esse servidor baseia-se na similaridade do grupo funcional para os compostos de consulta com os compostos validados *in vitro* e *in vivo* presentes neste banco de dados. Foram calculadas as propriedades tóxicas como classe de toxicidade, geração de fragmentos tóxicos, valores de LD50 em mg / kg, metas de toxicidade e propriedades relevantes ao medicamento [c Log P, Log S (solubilidade)], peso molecular e pontuação geral do medicamento (DRWAL et al, 2014), essa abordagem foi baseada nos estudos de Roy e colaboradores (2015)

O perfil de toxicidade também foi avaliado usando o programa DEREK 10.0.2 (Lhasa Limited, Leeds, Reino Unido). Foram considerados os alertas de toxicidade envolvendo a espécie humana e, também, classificados como plausível em

mamíferos. O programa DEREK pode identificar aspectos relacionados à carcinogenicidade, mutagenicidade, sensibilização da pele, irritação, teratogenicidade e neurotoxicidade (BORGES,2019).

3.4.3 Estudo de docking molecular

3.4.3.1 Seleção da estrutura alvo terapêutica e ligante

O processo de seleção da estrutura ciclooxygenase-2 (COX-2), foi proveniente do banco de dados Protein Data Bank (PDB, <http://www.rcsb.org/pdb>). Sendo identificado pelo método de difração de raio-X, com o código PDB 3LN1 (*Mus musculus*) com uma resolução de 2,4 Å. O ligante utilizado no estudo molecular de acoplamento foi o Celecoxibe (CONTROLE), que está no servidor PDB no formato .sdf, garantindo a conformação bioativa. Para o estudo de acoplamento molecular a estrutura do ligante (CEL) e o alvo biológico (COX-2) foram preparados utilizando o software Discovery Studio 4.1, seguindo os protocolos estabelecidos pelo grupo de pesquisa e os dados da literatura. (RAMOS et al, 2019; SILVA et al, 2019; COSTA et al. 2019).

3.4.3.2 Docagem molecular usando AutoDock 4.2/Vina 1.1.2 via Interface gráfica Pyrx (Version 0.8.30)

No acoplamento molecular, utilizou-se a estrutura do Celecoxibe ligada a COX-2 (*Mus musculus*, PDB 3LN1), usando o software AutoDock 4.2 que é um conjunto de ferramentas que permitem avaliar a interação entre o ligante e a macromolécula, para identificar combinações potenciais através da interface gráfica PyRx 0.8 (versão 0.8.30) com parâmetros padrão de algoritmo genético, seguindo o protocolo descrito por Padilha et al. (2016) e Pereira et al. (2017).

As coordenadas espaciais X, Y e Z foram determinadas na região do sítio ativo de acordo com a interação observada entre a enzimas e seu respectivo ligante cristalográfico. As coordenadas usadas para o centro e o tamanho da caixa podem ser vistas na Tabela 1. As visualizações e as medidas de distância das interações entre os ligantes e enzimas foram realizadas usando o programa Discovery Studio Visualizer v17.2.

Tabela 1. Dados de protocolos usados na validação de docking molecular

Receptor	Ligante	Coordenadas do ligante do Grid Center	Grid Size (Points)
COX2 (PDB ID 3LN1)	Celecoxibe	X = 30.55	X = 21
		Y = -21.77	Y = 18
		Z = -16.57	Z = 19

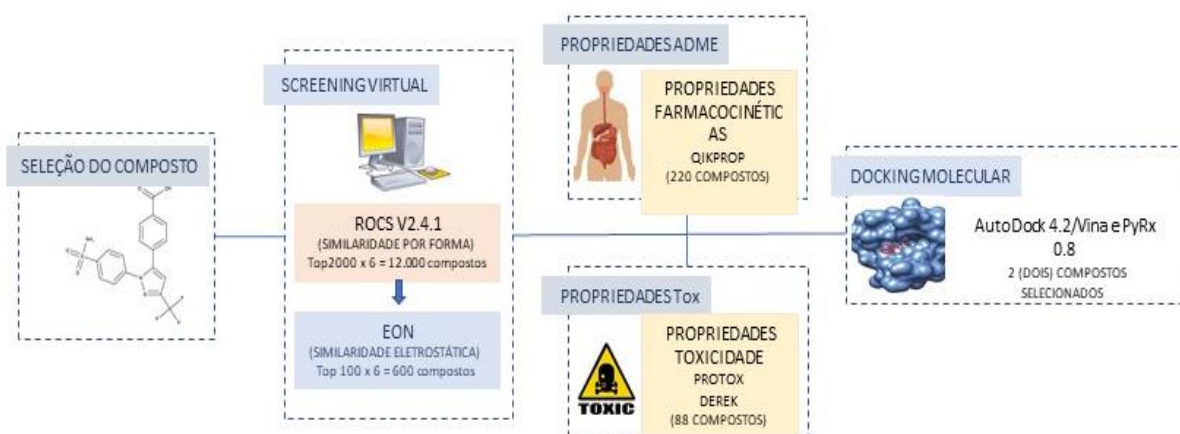
Fonte: Autora da pesquisa, 2019.

A função de pontuação energética foi usada para avaliar a energia livre de ligação (ΔG) de interações entre COX-2 e ligantes em PyRx 0.8.30. Além disso, a análise das poses (conformação + orientação) dos ligantes foi avaliada levando em consideração a seleção da melhor energia livre de ligação e cálculos de afinidade de ligação no AutoDock 4.2 / Vina 1.1.2. A fim de avaliar a seletividade frente aos compostos organismos *mus musculus* em função da afinidade de ligação no receptor ciclooxigenase- 2 (COX- 2) (COSTA et al, 2018)

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As análises *in silico* são extensivamente utilizadas nas pesquisas de novos fármacos, pois podem delinear ligações e afinidades, bem como, a farmacocinética das moléculas através da análise das posições entre candidatos a fármacos e receptores, através de softwares. O celecoxibe, apesar da seletividade, possui reações adversas relacionadas ao sistema cardiovascular, principalmente. Partindo deste pressuposto, moléculas melhores que o celecoxibe foram selecionadas a possíveis candidatos a fármacos.

Figura 11. Triagem Virtual



Partindo da molécula pivô, o celecoxibe, e seus confômeros, foram selecionadas 12.000 moléculas iniciais em 06 bases de bancos de dados, e, após as etapas de triagem virtual de modelagem molecular propostas neste estudo, resultaram 02 (duas) moléculas promissoras candidatas a fármaco, capazes de serem iniciados testes *in vitro* e/ou *in vivo*.

Fonte: Autora da pesquisa, 2020.

4.1 TRIAGEM VIRTUAL BASEADA EM ESTRUTURA E LIGANTE

A triagem virtual foi realizada a partir do composto pivô, que possui sua cristalografia definida para atividade enzimática sobre a COX-2, com PDB 3LN1. O software ROCS foi projetado para executar buscas em bases virtuais de estruturas tridimensionais em larga escala, usando o método da similaridade por sobreposição baseado na forma do ligante e seus respectivos átomos maiores, não considerando os hidrogênios. Por meio da triagem virtual ROCS, foram selecionadas as moléculas com coeficientes de Tanimoto entre 0,0 e 1,0, obteve-se um total de 2000 estruturas por base, totalizando 12.000 estruturas selecionadas. O combo Tanimoto gerado no

ROCS deve ser superior a 0,7 para que possam ser selecionadas para a próxima etapa, e todas as moléculas se enquadraram neste parâmetro, ver TABELA 2. (GRANT et al, 1996; MISHRA; BASU, 2013; MANTOANI et al, 2014).

As moléculas selecionadas e preparadas no ROCS, do total de 12.000 estruturas, submetidas a triagem virtual por similaridade baseada na afinidade eletrostática com a molécula pivô utilizando o programa EON, resultaram nas “Top100” por base, ou seja, 600 estruturas, que avançaram para as previsões farmacocinéticas e toxicológicas. A combinação ROCS e EON seleciona potenciais compostos com forma e afinidade eletrostática semelhantes, onde, a probabilidade de compartilharem as mesmas propriedades (biológicas) com o pivô são relevantes.

Tabela 2. Pontuações ROCS das moléculas selecionadas

Molécula	ROCS Shape Tanimoto ^a	ROCS Color Tanimoto ^b	ROCS Combo Tanimoto ^c	EON Tanimoto ^d
LMQC_1	0.807	0.350	1.157	0.819
LMQC_2	0.805	0.256	1.061	0.772

a (concordância de forma) e **b** (características químicas – átomos): valor de referência de 0.0 a 1.0 – onde, 0.0 são compostos totalmente diferentes e 1.0 são compostos iguais, exatamente com o mesmo número de fragmentos; **c** (somatória dos coeficientes de Tanimoto): valor de referência – acima de 0.7; **d** (score eletrostático): valor de referência – de 1.0 a negativo.

Fonte: Autora da pesquisa, 2020.

4.2 PREDIÇÕES DE PROPRIEDADES FARMACOCINÉTICAS E DE TOXICIDADE

4.2.1 Predições de Propriedades Farmacocinéticas

Já no estágio inicial da pesquisa, as 600 estruturas obtidas na etapa anterior foram submetidas a predição de propriedades farmacocinéticas – ADME, posteriormente, a toxicidade. Essas propriedades visam delimitar que entre as moléculas selecionadas, apenas as que possuem parâmetros ao seu precursor possam continuar no estudo, afinal, as propriedades ADME são identificadas como as principais causas de falhas no desenvolvimento de novos candidatos a fármacos, quando fora dos valores de referência, e, se realizadas ao final de um estudo, podem desperdiçar o tempo gasto nas etapas anteriores (DIMASI et al. 2003; DARVAS et al. 2002; EGAN, 2010; PRUEKSARITANONT; TANG, 2012; WANG et al., 2015; WINIWARTER, 2018).

As propriedades farmacocinéticas são representadas pelas seguintes etapas: absorção, distribuição, metabolização e excreção (ADME), e, vários são os fatores que podem influenciar nesse percurso, incidindo diretamente na eficácia do fármaco.

Na Tabela 4, estão listados os dados de três descritores moleculares para análise das duas moléculas selecionadas (LMQC_1 e LMQC_2) durante o estudo de docking molecular. Esses dados incluem os seguintes parâmetros: similaridade de drogas (#star), regra de Lipinski (regra dos cinco – Ro5) e porcentagem de absorção humana (HOA%) (LIPINSKI, 2000; LIPINSKI, 2001);

TABELA 3. Descritores moleculares para avaliação da biodisponibilidade.

Compostos	#Stars ^a	Ro5 ^b	%AOH ^c	QPlogKhsa ^d
Celecoxibe	0	0	92,389	0,316
LMQC_01	0	0	100	0,416
LMQC_02	0	0	100	0,355

Faixa para 95% dos medicamentos conhecidos: a (similaridade de drogas): de 0 a 5; b (número de violações da regra dos cinco de Lipinski): máximo de 4; c (porcentagem de absorção oral humana): >80% - alta e <25% - baixa; d (afinidade de ligação a albumina sérica): -1,5 a 1,5).

Fonte: Autora da pesquisa, 2020.

Os resultados descritos na TABELA 3 para os compostos LMQC_1 e LMQC_2 mostram que não houve violação dos descritores analisados: #star e Regra dos Cinco de Lipinski – Ro5, ou seja, demonstram, teoricamente, boa biodisponibilidade oral. Além disso, ao avaliar a porcentagem de absorção oral humana (HOA%) os dois compostos apresentaram alta capacidade de absorção quando comparados com o celecoxibe (92%) mostrando que podem chegar em concentrações efetivas na circulação sistêmica (LIPINSKI, 2000; LIPINSKI, 2001).

A distribuição de um medicamento depende da ligação a proteína plasmática (PP) e partição no tecido adiposo e outros tecidos. No plasma, o medicamento pode estar ou não complexado a uma PP, vai depender da afinidade que a droga apresenta pela proteína plasmática. Se a ligação às proteínas for reversível, haverá um equilíbrio químico entre estados ligados e não ligados. A ligação de proteínas pode influenciar na meia-vida biológica do corpo. A porção ligada pode atuar como um reservatório ou depósito no qual o medicamento é liberado lentamente diferente da forma não acoplada. Enquanto a forma não ligada sofre metabolização e / ou excreção do corpo, a fração vinculada será liberada para que se mantenha o equilíbrio (CUNHA, 2015).

Ainda na TABELA 3, pode-se observar que os valores do QPlogKhsa de LMQC_1 e LMQC_2 estão dentro do preconizado como de referência, inclusive bem próximos ao do celecoxibe, sugerindo equilíbrio no processo de distribuição, metabolização e excreção.

Os compostos administrados por via oral devem ter solubilidade aquosa e permeabilidade intestinal adequada, de forma a atingir sua concentração terapêutica na circulação sistêmica (BALIMANE et al, 2000; VOLPE; 2011; CUNHA et al, 2015). Para tanto, a absorção dos compostos no trato gastrointestinal foi estimada pela avaliação da permeabilidade celular em células Caco-2 e MDCK (TABELA 4), assim, as moléculas LMQC_1 e LMQC_2 mostram valores superiores a 500 nm/sec, parâmetro considerado como ótimo para permeabilidade. Além disso, apresentaram valores melhores que o composto celecoxibe.

Os descritores utilizados para a previsão do transporte passivo devem ter valores acima de 500 nm/s para serem considerados bons, enquanto valores menores que 25 nm/s são considerados ruins.

Tabela 4. Descritores de permeabilidade

Compostos	QPPCaco ^a	QPPMDCK ^b	QPlogBB ^c	SNC ^d
Celecoxibe	450,968	871,557	-0,717	-1
LMQC_01	4727,14	5840,84	0,27	1
LMQC_02	5089,98	10000	0,439	1

Faixa para 95% dos medicamentos conhecidos: a (permeabilidade prevista das células Caco-2): <5 – baixo e >500 - alto; b (permeabilidade das monocamadas de células rim canino Madin-Darby): <25 – ruim e >500 - ótimo; c (coeficiente de partição barreira hematoencefálica): de -3 a 1; d (atividade no sistema nervoso central): -2 (inativa) a +2 (ativa).

Fonte: Autora da pesquisa, 2020.

A barreira hematoencefálica é uma estrutura específica que protege, controla e regula a homeostase do sistema nervoso central através da separação entre cérebro e sangue sistêmico. Para um fármaco com atividade biológica no sistema nervoso central (SNC), um alto valor de penetração é necessário. No entanto, neste estudo busca-se estruturas sem atividades no SNC, assim, devem apresentar baixos valores de penetração, minimizando os efeitos colaterais (ROJAS; RITTER; PIZZOL, 2011; WANG; HOU, 2009). De acordo com Ma, Chem e Yang (2005) os valores para as predições do Coeficiente de partição cérebro/sangue (QPlogBB) devem ser menores

ou igual 1, para moléculas inativas no SNC, assim, as moléculas selecionadas apresentaram valores dentro da faixa de inatividade para o SNC.

4.2.2 Predições de propriedades de toxicidade

A identificação de compostos químicos potencialmente tóxicos representa um problema importante. Esse problema é crucial, por exemplo, nos estágios iniciais da descoberta de medicamentos. A retirada de uma droga lançada do mercado devido a reações adversas a drogas (RAMs) é a falha mais cara de um programa de descoberta de drogas, frequentemente seguida por anos e anos de ações judiciais e acordos caros (DIMASI et al. 2003; DARVAS et al. 2002; EGAN, 2010; PRUEKSARITANONT; TANG, 2012; WANG et al., 2015; WINIWARTER, 2018).

Portanto, é fundamental que os químicos medicinais estejam cientes das possíveis características estruturais que podem causar RAMs em doses eficazes. Outro campo relacionado é a toxicologia ambiental (ou ecotoxicologia), que avalia o risco ambiental de produtos químicos produzidos industrialmente. Novamente, os estudos para realizar essa estimativa são baseados em experimentos caros e demorados (DIMASI et al. 2003; DARVAS et al. 2002; EGAN, 2010; PRUEKSARITANONT; TANG, 2012; WANG et al., 2015; WINIWARTER, 2018).

Assim, a identificação em fases iniciais permite a seleção de moléculas com um melhor perfil de segurança possam avançar as etapas de desenvolvimento de fármacos e, assim, evitar sua retirada do mercado após seu lançamento como aconteceu com o Rofecoxibe. A tabela 5 mostra que os compostos LMQC_1 e LMQC_2 não apresentaram alertas de grupos toxicofóricos quando comparados ao CEL (DIMASI et al. 2003; DARVAS et al. 2002; EGAN, 2010; PRUEKSARITANONT; TANG, 2012; WANG et al., 2015; WINIWARTER, 2018).

Tabela 5. Previsão de toxicidade pela identificação de grupos toxicóforos e LD50

Compostos	Alerta de Predição de toxicidade (Lhasa Prediction)	Grupo toxicofórico	Alerta de Toxicidade	LD ₅₀ ^[a]	Classificação de Toxicidade ^[b]
Celecoxibe	Hiperplasia urotelial da bexiga em camundongos e ratos	ARIL-SULFONAMIDA	PLAUSÍVEL	1400	IV
	Carcinogenicidade em ratos e camundongos				
	Toxicidade oclusa				
	Fototoxicidade				
LMQC_01	-	-	SEM ALERTAS	1000	IV
LMQC_02	-	-	SEM ALERTAS	2000	IV

^[a] Valores em mg / kg de peso corporal. ^[b] Classe I: fatal se ingerida ($LD_{50} \leq 5$); Classe II: fatal por ingestão ($5 < LD_{50} \leq 50$); Classe III: tóxico por ingestão ($50 < LD_{50} \leq 300$); Classe IV: nocivo por ingestão ($300 < LD_{50} \leq 2000$); Classe V: pode ser nocivo se ingerido ($2000 < LD_{50} \leq 5000$); Classe VI: não tóxico ($LD_{50} > 5000$).

Fonte: Autora da pesquisa, 2020.

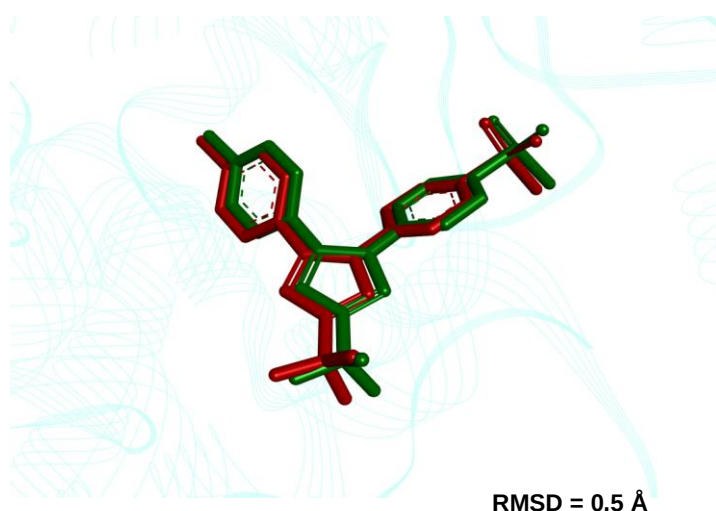
4.3 DOCKING MOLECULAR

O docking molecular desempenha um papel importante na descoberta de moléculas biologicamente ativas, pois os resultados provenientes do docking permitem analisar diferentes modos de ligação de um mesmo ligante ou de ligantes distintos, além de identificar aqueles com maior probabilidade de interação com a molécula receptora (COUTINHO, MORGAN, 2007). Assim, a análises de docking molecular realizada nesse estudo têm por objetivo compreender o modo de interação das moléculas selecionadas, após a utilização dos filtros de predição farmacocinética e de toxicidade.

4.3.1 Validação do docking molecular

A comparação entre as conformações do ligante cristalográfico com os resultantes do redocking apresentou um valor de RMSD de 0,50, valor dentro do recomendado pela literatura, que considera valores adequados abaixo de 2 (HEVENER et al., 2009). Assim o redocking foi capaz de reproduzir modos de ligação observados experimentalmente, validando o docking. O alinhamento entre a conformação experimental e a computacional pode ser visto na FIGURA 12.

Figura 12. Resultado da validação COX-2 (*Mus musculus*, PDB 3LN1), o ligante cristalográfico celecoxibe (cor vermelha) e a melhor conformação predita por docking molecular (cor verde).



Fonte: Autora da pesquisa, 2020.

Após a validação, o docking molecular foi usado para prever a afinidade de ligação de 88 estruturas, obtidas pela triagem virtual e selecionadas após as análises farmacocinéticas e de toxicidade, para selecionar os candidatos mais promissores. A TABELA 6 mostra os melhores valores de afinidade de ligação, em kcal mol⁻¹. O controle CEL apresentou afinidade de ligação de – 9.5 kcal.mol⁻¹. A avaliação do processo de docking molecular foi realizada com base no parâmetro de afinidade de ligação do ligante CEL experimental (PDB 3LN1) e os valores teóricos, calculados usando o AutoDock são mostradas na Tabela 5 (DOS SANTOS et al., 2020).

Tabela 6. Comparação entre afinidades de ligação experimental e teórica

Enzima	Resolução	Ligante	Afinidade de ligação experimental ^[a] (kcal/mol)	K _i ^[B] (nM)	Afinidade de ligação teórica (kcal/mol)
COX-2 (PDB 3LN1)	2.4 Å	Celecoxibe	-9.5	1x10 ⁻⁷	-10.4

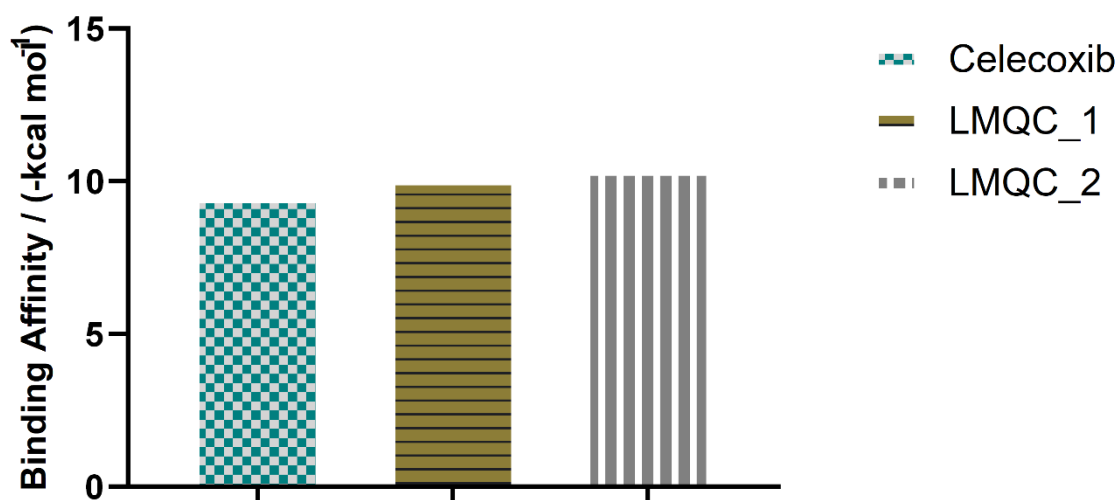
^[a] Valor calculados a partir da constante de inibição determinada experimentalmente (K_i), encontrada no PDB, de acordo com a Equação: $\Delta G = RT \ln K_i$, foram R (constante de gás) = $1.987 \cdot 10^{-3}$ kcal / (mol K) e T (temperatura) = 310 K.

Fonte: Autora da pesquisa, 2020.

A ancoragem molecular reproduz a afinidade de ligação teórica as moléculas LMQC_01 e LMQC_02 como potenciais candidatos a fármacos. Como parâmetro de avaliação utilizado foi a afinidade de ligação teórica do ligante CEL e o cálculo do desvio (diferença) entre as afinidades de ligação (teórica e experimental), ver TABELA 6.

Portanto, as moléculas LMQC_01 ($\Delta G = -10.1$ kcal/mol) e LMQC_02 ($\Delta G = -10.5$ kcal/mol), mostram valores de afinidade de ligação teórica maiores, quando comparado ao valor do composto de referência celecoxibe ($\Delta G = -10.4$ kcal/mol), conforme FIGURA 13.

Figura 13. Valores de afinidade de ligação do ligante ao PDB ID 3LN1 da COX-2 (*Mus musculus*) obtido por acoplamento molecular



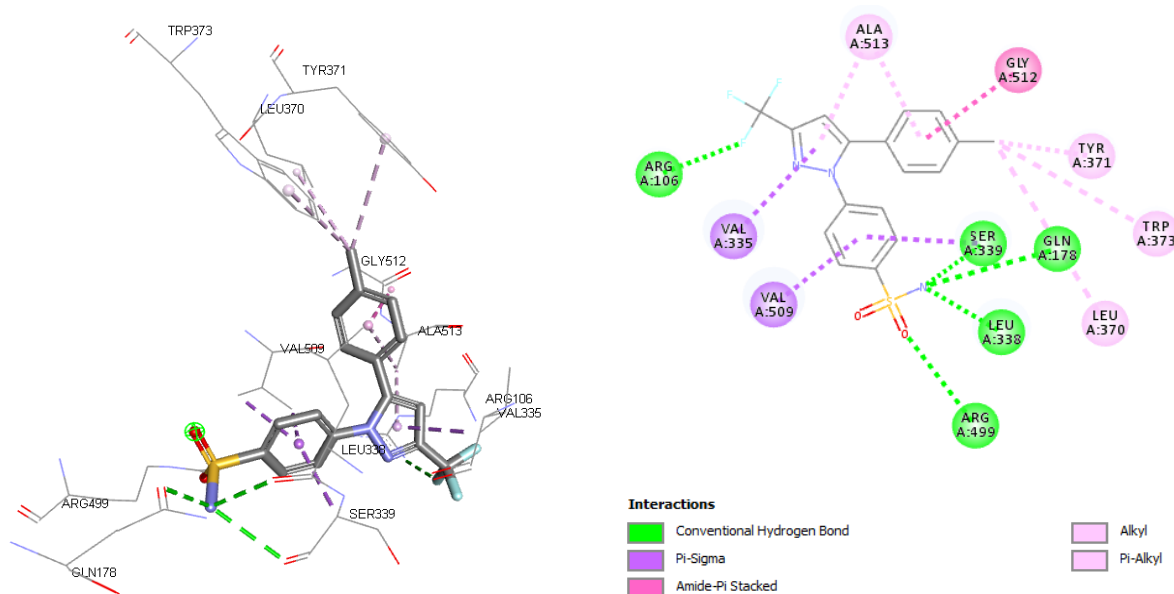
Fonte: Autora da pesquisa, 2020.

A entrada do sítio é revestida pelos resíduos de aminoácidos hidrofílicos Arg-120, Glu-524 e Tyr-355 e a bolsa lateral com os resíduos de aminoácidos His-90, Arg-513 e Val-523 (ORLANDO & MALKOWSKI; 2016). Os resíduos de aminoácidos Arg-120, Tyr-355, His-90, Arg-513, Val-523, Ser-353 e Glu-124 são de suma importância para o encaixe do ligante no sítio ativo (WANG et al, 2010).

Nesse estudo a pose cristalográfica da enzima COX-2 (3LN1 – PDB) utilizada apresenta a numeração de aminoácidos diferente dos relatados por WANG e colaboradores (2010), porém os resíduos de aminoácidos apresentam-se exatamente na mesma posição, onde: cavidade hidrofóbica TYR 334, PHE 367, LEU 370, TYR 371, TRP 373, PHE 504, GLY 512, ALA 513 e a cavidade o qual se liga o grupamento trifluorometil apresenta os aminoácidos MET 99, VAL102, VAL335, TYR341, LEU345, LEU517 (AZIZIAN *et al.*, 2012; RAZZAGHI-ASL *et al.*, 2018; MACARINI, 2019).

Observa-se que na FIGURA 14, que o oxigênio do grupo sulfonamida do composto CEL realiza uma interação do tipo ligação de hidrogênio com o resíduo de aminoácido arginina (Arg 499), os hidrogênios ligados ao nitrogênio do grupo sulfonamida formam ligações de hidrogênio com os resíduos de aminoácidos serina, leucina e glicina (SER 339, LEU 338 e GLN178), apresentando similaridades aos sítios de ligação obtidos nos estudos realizados por GHAREB e colaboradores (2017) e RAZZAGHI-ASL e colaboradores (2019).

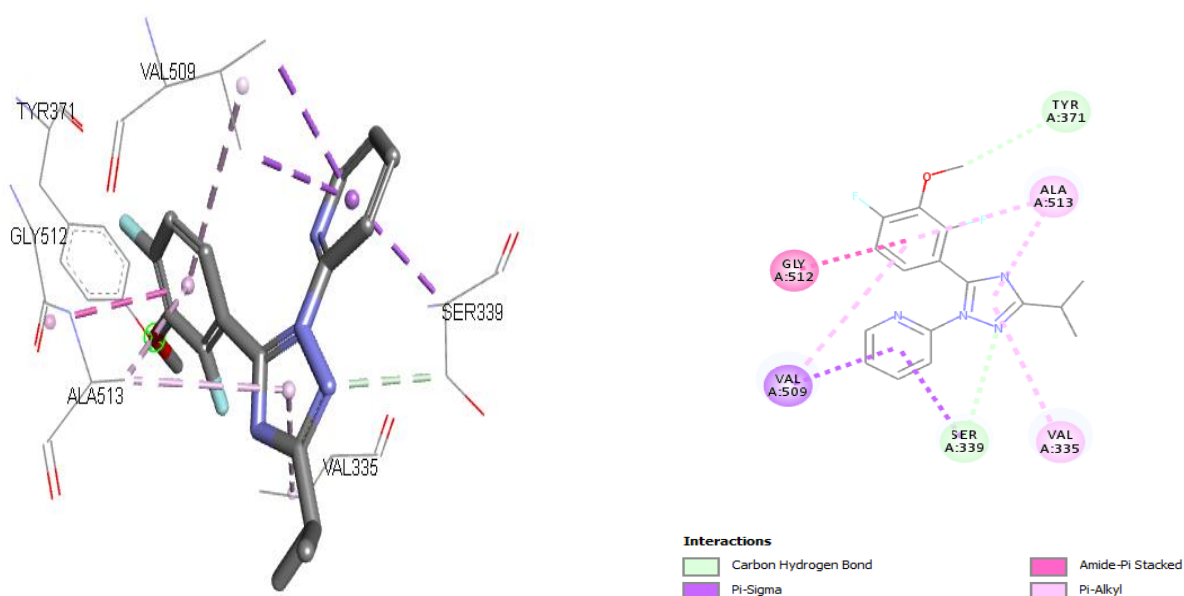
Figura 14. Docking molecular do Celecoxibe e interações com resíduos da enzima COX-2



Fonte: Autora da pesquisa, 2020.

Na FIGURA 15 é apresentado o diagrama 2D da molécula LMQC 1, gerado pelo programa BIOVA Discovery Studio. É possível identificar uma ligação carbono-hidrogênio do grupamento Metóxi ao resíduo de aminoácido tirosina (TYR 371) na cavidade hidrofóbica, uma ligação do tipo amida pi-stacked entre o grupamento metoxi-fenil e o resíduo de aminoácido glicina (GLY 512), duas ligações do tipo alquila do anel triazólico com os resíduos de aminoácidos alanina (ALA 513) e valina (VAL 335), uma ligação ligação carbono-hidrogenio do anel triazolico com o resíduo de aminoácido serina (SER 339) e duas ligações do tipo pi-sigma do anel piridinico com os resíduos de aminoácidos serina e valina (SER 339 e VAL509).

Figura 15. Docking molecular do composto LMQC_1 e interações com resíduos da enzima COX-2

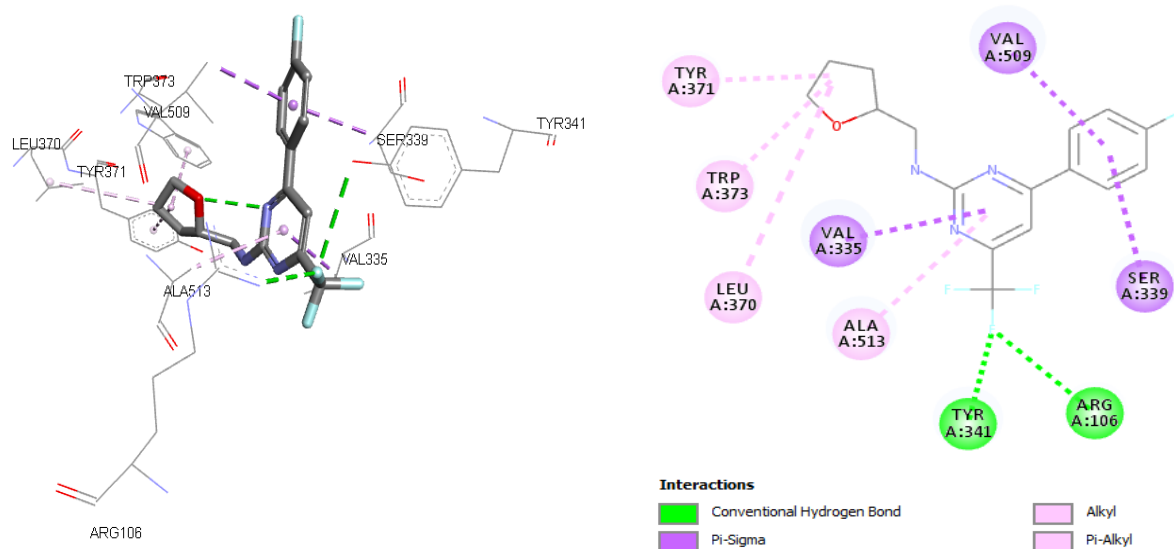


Fonte: Autora da pesquisa, 2020.

A FIGURA 16 mostra o diagrama 2D da molécula LMQC 2, gerado pelo programa BIOVA Discovery Studio. É possível identificar duas ligação carbono-hidrogênio do grupamento tri-fluorometil e os resíduos de aminoácidos tirosina (TYR 341) e arginina (Arg 106), duas ligações do tipo pi-sigma entre o anel fluorobenzeno e os resíduos de aminoácidos valina (509) e serina (339), três ligações do tipo pi-alquila do anel tetrahydrofurano com os resíduos de aminoácidos tirosina (ALA 513), tripisina (VAL 335) e leucina (LEU 370). Também observa-se uma ligação pi-sigma

do anel pirimidínico com o resíduo de aminoácido valina (VAL 513) e uma ligação pi-alquila do anel pirimidínico com o resíduo de aminoácido alanina (ALA 513) .

Figura 16. Docking molecular do composto LMQC_2 e interações com resíduos da enzima COX-2.



Fonte: Autora da pesquisa, 2020.

Assim ao analisar os resultados de docking obtidos observa-se que Arg106, Gln178, Phe 504, Ser 516, Arg 106 e Ser 339 são resíduos importantes na manutenção das conformações energéticas dos compostos estudados dentro da sítio da COX-2, pois estão envolvidos na ligação de hidrogênio e nas interações hidrofóbicas com a maioria dos compostos desempenhando um papel importante e crítico na interação inibidor-proteína. E de acordo com os resultados obtidos, esses compostos se apresentam como potenciais inibidores seletivos da COX-2.

Os dados quantitativos dos tipos de interações e suas respectivas distâncias, e afinidades de ligação entre os ligantes e a enzima COX-2 são exibidos na TABELA 6. É verificado que, entre as estruturas, o aumento da diversidade de interações com diferentes aminoácidos pode resultar na diminuição dos valores de afinidade de ligação conforme observado com o composto controle CEL, o que indica maior grau de espontaneidade das interações.

Tabela 7. Interações com resíduos de aminoácidos e respectivas distâncias entre os ligantes e enzima COX-2.

Compostos	Aminoácidos	Distância (Å)	Tipo	Energia Livre de Ligação (kcal/mol)
Celecoxibe vs 3LN1	Arg 106	3.53	Lig. de hidrogênio	-9.5
	Gly178	3.08	Lig. de hidrogênio	
	Val 335	3.84	Pi-sigma	
	Leu 338	3.09	Lig. de hidrogênio	
	Ser 339	3.49	Pi-sigma	
	Ser 339	3.09	Lig. de hidrogênio	
	Leu 370	5.20	Alquil	
	Tyr 371	4.53	Alquil	
	Trp 373	4.79	Alquil	
	Arg 499	3.31	Lig. de hidrogênio	
	Val 509	4.56	Pi-sigma	
	Gly 512	3.88	Amida pi-stacked	
	Ala 513	4.13	Pi-Alquil	
	Ala 513	4.51	Pi-Alquil	
LMQC01 vs 3LN1	Val 335	4.94	Pi-alquil	-10.1
	Ser 339	3,77	Lig.H-C	
	Ser 339	3.52	Pi-sigma	
	Tyr 371	2.98	Lig.H-C	
	Val 509	3,80	Pi-sigma	
	Val 509	5.34	Pi-alquil	
	Gly 512	3.91	Lig.H-C	
	Ala513	4.38	Pi-alquil	
	Ala513	4,40	alquil	
LMQC02 vs 3LN1	Arg 106	3.02	Lig.H-C	-10.5
	Val 335	3.65	Pi-sigma	
	Ser 339	3.60	Pi-sigma	
	Tyr 341	3.62	Lig.H-C	
	Leu 370	5.49	Alquil	
	Tyr 371	4.85	Alquil	
	Trp373	5.02	Alquil	
	Val 509	3.67	Pi-sigma	
	Ala 513	4.15	Pi-sigma	

Fonte: Autora da pesquisa, 2020.

5 CONCLUSÃO

Neste estudo, foi realizada a abordagem de modelagem molecular para a identificação de potenciais compostos candidatos à fármacos anti-inflamatórios baseados na estrutura do Celecoxibe. Essa abordagem envolveu a triagem virtual similaridade e estrutura de um total de 238.922 estruturas dispostas previamente em seis bases de banco dados de compostos comerciais, estudos de predições farmacocinética, toxicidade e de docking molecular.

Após os resultados de docagem molecular para as estruturas bioativas oriundos de triagem virtual baseado em ligante, é proposto que dois (2) compostos selecionados neste estudo, poderão ligar-se ao enzima ciclooxigenase 2 com boa afinidade de ligação, destacando os compostos LMQC_1 e LMQC_2 oriundos da base de dados, como apresentam as principais características dos ligantes importantes na estrutura do enzima e com melhores propriedades farmacocinéticas e toxicológicas e mais potentes, podendo ser considerados novos candidatos a fármacos com atividade anti-inflamatória sobre a COX-2.

Além disso, essas estruturas promissoras podem ser usadas como protótipos para o desenvolvimento de fármacos via novas triagens virtuais baseado em estrutura ou ligantes em diferentes bases de dados para a busca de novos candidatos a fármacos com atividade anti-inflamatória sobre a COX-2. e/ou futura aquisição e aplicação de protocolo de testes ensaios *in vitro* e *in vivo* para atividade anti-inflamatória. Estudos futuros de modificação molecular das estruturas bioativas resultantes, também poderão ser realizados com objetivo de melhorar a afinidade de ligação entre os ligantes e a enzima COX-2.

Referências Bibliográficas

ABOUL-ENEIN, M. N. et al. Synthesis, Molecular Modeling, Anticonvulsant and Antinociceptive Properties of New 1,1-Disubstituted Cyclohexane and 1,3-Diazaspiro[4.5]decane Derivatives. *ChemistrySelect*, v. 4, n. 4, p. 1360–1365, 2019.

ACD/CHEMSKETCH FREEWARE, version 12.00: Advanced Chemistry Development, Inc. Toronto, ON, Canada, 2010.

ADEREM, A.; SMITH, K. D. A systems approach to dissecting immunity and inflammation. *Semin. Immunol.* v. 16 (1), p. 55-67, 2004.

AIRES, M.M. *Fisiologia*. 4. Ed. Rj. Guanabara, 2012.

ALBERGA, D., et al. Prediction of Acute Oral Systemic Toxicity Using a Multifingerprint Similarity Approach. *Toxicological Sciences*, v. 167, n. 2, p. 484-495, 2018.

ALVES, J. E. O. et al. Mecanismos Fisiopatológicos Da Nocicepção E Bases Da Analgesia Perioperatória Em Pequenos Animais. *Acta Biomédica Brasiliensia*, v. 8, n. 1, p. 56, 2017.

ALVES, V.D. Desenvolvimento de modelos de QSAR e análise quimiointormática da sensibilização e permeabilidade da pele. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Goiás. Goiânia, 2014.

AMARAL, A. T.; MONTANARI, C. A. Química medicinal: 25 anos de planejamento racional de fármacos. *Química Nova*, v. 25 (1), p. 39-44, 2002.

ANTUNES, D.M. Expressão gênica de citocinas em linhagens de carcinoma epidermoide de cavidade oral após tratamento com ácido acetilsalicílico e celecoxibe. Tese (Doutorado em Odontologia). Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de São Paulo, 2015.

ATTIQ, A.; JURIYATI, J.; HUSAIN, K.. *Annonaceae: Breaking the Wall of Inflammation*. v. 8, n. 2017.

ATTIQ, Ali et al. Raging the War Against Inflammation With Natural Products. v. 9, n. September, p. 1–27, 2018.

AZIZIAN, J. *et al.* Synthesis, biological activity and docking study of some new isatin Schiff base derivatives. *Medicinal Chemistry Research*, v. 21, n. 11, p. 3730–3740, 2012.

BACCHI, S. *et al.* Clinical pharmacology of non-steroidal anti-inflammatory drugs: a review. *Anti-inflammatory & anti-allergy agents in medicinal chemistry*, v. 11, n. 1, p. 52–64, 2012

BARCELLOS, M. P. *et al.* Pharmacophore and structure-based drug design, molecular dynamics and admet/tox studies to design novel potential pad4 inhibitors. *J Biomol Struct Dyn*, p. 1-16, 2018.

BARREIRO, E. J.; *et al.* A química medicinal de N-acilidrazonas: novos compostos-protótipos de fármacos analgésicos, antiinflamatórios e anti-trombóticos. *Quím. Nova* [online]. 2002, vol.25, n.1.

BARREIRO, E.J. *et al.* Modelagem Molecular: Uma Ferramenta Para O Planejamento Racional De Fármacos Em Química Medicinal. *Química Nova*, 20 (3), 300-10, 1997.

BARTON, G. M. Review series A calculated response : control of inflammation by the innate immune system. *The Journal of Clinical Investigation*, v. 118, n. 2, 2008.

BASIL, M. C.; LEVY, B. D. Specialized pro-resolving mediators: endogenous regulators of infection and inflammation. *Nature Reviews Immunology*, v. 16, n. 1, p. 51, 2016.

BECK, P.L. *et al.* Mechanisms of NSAID-induced gastrointestinal injury defined using mutant mice. *Gastroenterology*. vol. 119, p. 699-705, 2000.

BENNETT, G. J. Update on the neurophysiology of pain transmission and modulation: Focus on the NMDA-receptor. *Journal of Pain an Aymptom Management*, v. 19, suplem. 1, p. 2-6, 2000.

BERMAN, H.M.; *et al.* How community has shaped the Protein Data Bank. *Structure*, v. 21, n. 9, p. 1485-1491, 2013.

BISSANTZ, C.; FOLKERS, G.; ROGNAN, D. Protein-based virtual screening of chemical databases. 1. Evaluation of different docking/scoring combinations. *J. Med. Chem.*, v. 43 (25), p. 4759-67, 2000.

BOELSTERLI, Urs A. Diclofenac-induced liver injury: a paradigm of idiosyncratic drug toxicity. *Toxicology and applied pharmacology*, v. 192, n. 3, p. 307-322, 2003.

BORGES, R. S et al. Avanços químicos no planejamento e desenvolvimento de derivados do paracetamol. *Química Nova*, v. 41, n. 10, p. 1167–1177, 2018.

BORGES, R. S. et al. Toward of Safer Phenylbutazone Derivatives by Exploration of Toxicity Mechanism. *Molecules*, v. 24, n. 1, p. 143, 2019.

BORGES, R. S. et al. Design and Evaluation of 4-Aminophenol and Salicylate Derivatives as Free-Radical Scavenger. **Chemical biology & drug design**, v. 81, n. 3, p. 414-419, 2013.

BORGES, R. S. Planejamento, Síntese e Avaliação Antioxidante de Inibidores Fenólicos da PGES Derivados da Associação p-Aminofenol e Salicilatos. Tese de Doutorado em Neurociências e Biologia Celular. UFPA, 2007.

BORGES, R. S; ALVES, C. N.; NASCIMENTO, J. L. M. Aplicação de Derivados da Associação Molecular como Antiagregantes Plaquetários e Inibidores de Radicais Livres PI1001434-9. 2010.

BORGES, Rosivaldo S.; CASTLE, Steven L. The antioxidant properties of salicylate derivatives: A possible new mechanism of anti-inflammatory activity. **Bioorganic & medicinal chemistry letters**, v. 25, n. 21, p. 4808-4811, 2015.

BOSTROM, J.; GRANT, J. A.; FJELLSTROM, O.; THELIN, A.; GUSTAFSSON, D. Potent fibrinolysis inhibitor discovered by shape and electrostatic complementarity to the drug tranexamic acid. *Journal of Medicinal Chemistry*, v. 56, p. 3273-3280, 2013.

BUER, Jonas Kure. Origins and impact of the term 'NSAID'. *Inflammopharmacology*, v. 22, n. 5, p. 263–267, 2014.

BURSULAYA, B. D., TOTROV, M., ABAGYAN, R., BROOKS, C. L. Comparative study of several algorithms for flexible ligand docking. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, v. 17, p. 755-763, 2003.

BUSHRA, R.; ASLAM, N.. An Overview of Clinical Pharmacology of Ibuprofen. v. 25, n. 3, p. 155–161, 2010.

CALDER, Ian C. et al. Hepatotoxicity of phenacetin and paracetamol in the Gunn rat. *Pathology*, v. 13, n. 4, p. 757-762, 1981.

CALIXTO, J. B.; SIQUEIRA, J. M. Desenvolvimento de medicamentos no Brasil: desafios. *Gazeta Médica da Bahia*, v. 78, p. 98-106, 2008.

CANNON, C. P.; CANNON, P. J. Physiology: COX-2 inhibitors and cardiovascular risk. *Science*, v. 336, n. 6087, p. 1386–1387, 2012.

CHAN, F.K.; GRAHAM, D.Y; Prevention of non-steroidal anti-inflammatory drug gastrointestinal complications- review and recommendations based on risk assessment. *Aliment Pharmacol Ther.*, v. 19, p.1051-1061, 2004.

CHANDRASEKHARAN, N.V.; DAI, H.; ROOS, K.L.; EVANSON, N.K.; TOMSIK, J; ELTON, T.S.; SIMMONS, D.L. COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: cloning, structure, and expression. *Proc. Natl. Acad.* v. 99, n. 21, p. 13926-31, 2002.

ChemBridge. The Gold standard in small molecule screening libraries and building blocks. Disponível em <www.chembridge.com>.

CHEMPLUS, Modular Extensions for HyperChem Release 6.02: Molecular Modeling for Windows, HyperClub, Inc, Gainesville, 2000.

CLARCK, D.W.; LAYTON, D.; SHAKIR, S.A. Do some inhibitors of COX-2 increase the risk of thromboembolic events? Linking pharmacology with pharmacoepidemiology. **Drug Saf.**, v. 27, p. 427-56, 2004.

COHEN, N.C.; BLANEY, J.M.; HUMBLET, C.; GUND, P.; BARRY, D.C. Molecular Modeling Software And Methods For Medicinal Chemistry. *J. Med. Chem.* 33 (3), p. 883-94, 1990.

COLE, J. C. et al. Comparing protein–ligand docking programs is difficult. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, v. 60, n. 3, p. 325-332, 2005.

COSTA, J. D. S. et al. An In Silico Study of the Antioxidant Ability for Two Caffeine Analogs Using Molecular Docking and Quantum Chemical Methods. *Molecules*, v. 23, n. 11, p. 2801, 2018.

Costela-Ruiz VJ, Melguizo-Rodríguez L, Illescas-Montes R, Ramos-Torrecillas J, Manzano-Moreno FJ, Ruiz C, Bertos EDL. Efeitos de doses terapêuticas de celecoxib em vários parâmetros fisiológicos de osteoblastos humanos cultivados. *Int J Med Sci* 2019; 16 (11): 1466-1472. doi: 10.7150 / ijms.37857. Disponível em <http://www.medsci.org/v16p1466.htm>

COTRON, Ramzi S.; ABBAS, Abul K.; FAUSTO, Nelson; ROBBINS, Stanley L.; KUMAR, Vinay: Robbins e Cotran: Patologia - Bases patológicas das doenças. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2005.

CRUZ, J. V. et al. Identification of Novel Protein Kinase Receptor Type 2 Inhibitors Using Pharmacophore and Structure-Based Virtual Screening. **Molecules**, v. 23, n. 2, p. 453, 2018.

CUNHA, Edilson L. et al. Computational investigation of antifungal compounds using molecular modeling and prediction of ADME/tox properties. *Journal of Computational and Theoretical Nanoscience*, v. 12, n. 10, p. 3682–3691, 2015.

DADIBOYENA, Sureshababu; HAMME II, Ashton T. Synthesis of Celecoxib and Structural Analogs- A Review. *Current Organic Chemistry*, v. 16, n. 11, p. 1390–1407, 2012.

DAHL, Stephen L.; WARD, John R. Pharmacology, clinical efficacy, and adverse effects of the nonsteroidal anti-inflammatory agent benoxaprofen. **Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy**, v. 2, n. 6, p. 354-365, 1982

DEREK, v. 10.0.2, Lhasa Ltd., UK, Leeds, 2007.

DONG, J. Q.; LIU, J.; SMITH, P. C. Role of benoxaprofen and flunoxaprofen acyl glucuronides in covalent binding to rat plasma and liver proteins in vivo. *Biochemical pharmacology*, v. 70, n. 6, p. 937-948, 2005.

DOS SANTOS, Kelton L.B. et al. Identification of novel chemical entities for adenosine receptor type 2a using molecular modeling approaches. *Molecules*, v. 25, n. 5, 2020.

DREWS, J. Drug Discovery: A Historical Perspective. *Science*, v. 287, p. 1960-1964, 2000.

DREWS, J. Strategic trends in the drug industry. *Drug Discovery Today*, v. 8 (9), p. 411-420, 2003.

ESSER, R., et al. Preclinical pharmacology of lumiracoxib: a novel selective inhibitor of cyclooxygenase-2. **British journal of pharmacology**, v. 144, n. 4, p. 538-550, 2005.

FEHRENBACHER, J. C., VASKO, M. R., DUARTE, D. B. Models of inflammation: carrageenan- or complete freund's adjuvant-induced edema and hypersensitivity in the rat. *Current Protocols in Pharmacology*, 56:5.4:5.4.1–5.4.4, 2012.

FLOWER, R. J. The development of COX2 inhibitors. *Nature Reviews Drug Discovery*, v. 2, n. 3, p. 179–191, 2003.

FOROUZESH, A. et al. Primary Target Prediction of Bioactive Molecules from Chemical Structure. **bioRxiv**, p. 413-237, 2018.

FOUAD, A.A.; AL-SULTAN, A.I.; YACOUBI, M.T.; GOMAA, W. Ameliorative effects of telmisartan in diabetic rats with indomethacin-induced gastric ulceration. *Eur. J. Pharmacol.*, vol. 637, p. 162-170, 2010.

GELDENHUYS, W.J.; GAASCH, K.E.; WATSON, M.; ALLEN, D.D.; VAN DER SCHYF, C. J. Optimizing the use of open-source software applications in drug discovery. *Drug Discovery Today.*, v. 11(3/4), p. 127-132, 2006.

GENEVE, J. E. A. N. et al. Inhibition of mitochondrial beta-oxidation of fatty acids by pirprofen. Role in microvesicular steatosis due to this nonsteroidal anti-inflammatory drug. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, v. 242, n. 3, p. 1133-1137, 1987.

GFELLER, D.; MICHIELIN, O.; ZOETE, V. Shaping the interaction landscape of bioactive molecules. **Bioinformatics**, v. 29, p. 3073–3079, 2013.

GILROY DW; LAWRENCE T; PERRETTI M; ROSSI AG. Inflammatory resolution: new opportunities for drug discovery. *Nat Rev Drug Discov.*, v. 3, p.401–416, 2004.

GOODSELL, D.S. The Protein Data Bank. In: *Atomic Evidence*. Springer International Publishing, p. 1-4, 2016.

GRANT, J.A.; GALLARDO, M.A.; PICKUP, B. A fast method of molecular shape comparison: A simple application of a Gaussian description of molecular shape. *Journal of Computational Chemistry*, v. 17, n. 14, 1653 – 1666, 1996.

GUEDES, K. M. M. et al. Salicytamide : a New Anti-inflammatory Designed Drug Candidate. *Inflammation*, v. 41, n. 4, 2018.

GUIDO, R.V.C.; ANDRICOPULO, A.D. Modelagem molecular de fármacos. Revista Processos químicos, v. 4, p. 24-36, 2008.

GUJRAL, Jaspreet S. et al. Mode of cell death after acetaminophen overdose in mice: apoptosis or oncotic necrosis?. Toxicological sciences, v. 67, n. 2, p. 322-328, 2002.

GUO, H.; CALLAWAY, J.; TING, J.. Inflammasomes: Mechanism of Action, Role in Disease, and Therapeutics. Nat Med, v. 21, n. 7, p. 677–687, 2016.

GUPTA, S.; MOHAN, C.G. Dual binding site and selective acetylcholinesterase inhibitors derived from integrated pharmacophore models and sequential virtual screening. Biomed Res Int, v. 21, 2014.

HANNA, V. S.; HAFEZ, E. A. A.. Synopsis of arachidonic acid metabolism: A review. Journal of Advanced Research, v. 11, p. 23–32, 2018.

HAWKEY, C. J. COX-1 and COX-2 inhibitors. Best Pract Res Clin Gastroenterol. v. 15 n. 5 p. 801-20, 2001.

HAWKINS, P.C.D.; NICHOLLS, A. Conformer generation with OMEGA: learning from the data set and the analysis of failures. Journal of chemical information and modeling, v. 52, n. 11, p. 2919-2936, 2012.

HAYDEN, M.S.; GHOSH, S. Signaling to NF-kappaB. Genes Dev. vol. 18, n. 18 p. 2195-224, 2004.

HERMANN, M.; RUSCHITZKA, F. Coxibs, non-steroidal anti-inflammatory drugs and cardiovascular risk. Internal Medicine Journal, v. 36, n. 5, p. 308–319, 2006.

HEVENER, K. E. et al. Validation of molecular docking programs for virtual screening against dihydropteroate synthase. Journal of chemical information and modeling, v. 49, n. 2, p. 444-60, 2009.

HILÁRIO, M.O.E.; TERRERI, M.T.; LEN, C.A. Antiinflamatórios não-hormonais da ciclooxigenase 2. J. Pediatr. (Rio J.), vol.82, no.5, 2006.

HUANG, G. J. et al. Antinociceptive activities and the mechanisms of anti-inflammation of asiatic acid in mice. Evidence-based Complementary and Alternative Medicine, v. 2011, 2011.

HUANG, H. J. et al. Current developments of computer-aided drug design. J. Taiwan Inst. Chem. Eng, v. 41, p. 623–635, 2010.

HUANG, J.; ZHANG, X.; MCNAUGHTON, P. Inflammatory pain: the cellular basis of heat hyperalgesia. Current Neuropharmacology, v. 4, p. 197-206, 2006.

HUTTI, J. E.; TURK, B. E.; ASARA, J. M.; AVERIL M.A., CANTLEY, L. C.; ABBOTT, D. W. I κ B Kinase β Phosphorylates the K63 Deubiquitinase A20 To Cause Feedback Inhibition of the NF- κ B Pathway. Molecular and cellular biology, p. 7451– 7461, 2007.

IMMING, P. Medicinal Chemistry: definitions and objectives, drug activity phases, drug classification systems. The Practice of Medicinal Chemistry, p. 63-71, 2008.

IRWIN, J.J.; SHOICHET, B.K. ZINC – A Free Database of Commercially Available Compounds for Virtual Screening. Journal of chemical information and modeling, v. 45, n. 1, p. 177-182, 2005.

JEFFREY, P.; SUMMERFIELD, S. Assessment of the blood-brain barrier in CNS drug discovery. Neurobiology of Disease, v. 37, p. 33-37, 2010.

JONES, R. Nonsteroidal anti-inflammatory drug prescribing: past, present, and future. Am. J. Med., v. 110, n. 1A, p. 4S-7S, 2001.

KAITIN, K. I.; DIMASI, J. A. Pharmaceutical innovation in the 21st century: New drug approvals in the first decade, 2000-2009. Clinical Pharmacology and Therapeutics, v. 89, n. 2, p. 183–188, 2011.

KALGUTKAR, Amit S. et al. A comprehensive listing of bioactivation pathways of organic functional groups. Current drug metabolism, v. 6, n. 3, p. 161-225, 2005.

KAR, S.; ROY, K. How far can virtual screening take us in drug discovery?, Expert opinion on drug discovery, v. 8, n. 3, p. 245–261, 2013.

KAWAHARA, K. et al. Prostaglandin E₂ -induced inflammation: Relevance of prostaglandin e receptors. Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids, v. 1851, n. 4, p. 414–421, 2015.

KIEFER, J. R. et al. Structural insights into the stereochemistry of the cyclooxygenase reaction. **Nature**, v. 405, n. 6782, p. 97-101, 2000.

KLAUMANN, P. R.; WOUK, A. F. P. F.; SILLAS, T. Pathophysiology of pain. Archives of Veterinary Science, v.13, p. 1-12, 2008.

KNIGHTS, K. M; MANGONI, A. A; MINERS, J. O. Defining the COX inhibitor selectivity of NSAIDs : implications for understanding toxicity. 2010.

KONTOYIANNI, M.; MCCLELLAN, L. M.; SOKOL, G. S. Evaluation of Docking Performance: Comparative Data on Docking Algorithms. Journal of Medicinal Chemistry, v. 47, n. 3, p. 558-565, 2004.

KRAYCHETE, D. C.; CALASANS, M. T. A.; VALENTE, C. M. L. Citocinas pró-inflamatórias e dor. Revista Brasileira de Reumatologia, v. 46, p. 199-206, 2206.

KRISHNA, P. S. et al. In -silico molecular docking analysis of prodigiosin and cycloprodigiosin as COX-2 inhibitors. Springerplus, v. 2, n. 1, p. 172, 2013.

KUMAR, V. et al. 4-Fluorophenylhydrazones as potential COX-2 inhibitors: a novel, efficient, one pot solid phase synthesis, docking study and pharmacological evaluation. **Medicinal Chemistry Research**, v. 22, n. 12, p. 5890-5900, 2013.

KURUMBAIL, R. G. et al. Structural basis for selective inhibition of cyclooxygenase-2 by anti-inflammatory agents. Nature, v. 384, n. 6610, p. 644-8, 1996.

LAWRENCE, T.; GILROY, D.W. Chronic inflammation: a failure of resolution? Int J. Exp. Pathol. Vol. 88, n. 2, p. 85-94. 2007.

LI, Chunze; GRILLO, Mark P.; BENET, Leslie Z. In vivo mechanistic studies on the metabolic activation of 2-phenylpropionic acid in rat. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, v. 305, n. 1, p. 250-256, 2003.

LICHETENSTEIN, D.R; WOLF, M.M.. COX-2 selective NSAIDs: new and improved? J Am Med Assoc. vol. 284, p. 1297-1299, 2000.

LIMA, L. M. Química medicinal moderna: desafios e contribuição brasileira. Quim. Nova, v. 30, n. 6, p. 1456-1468, 2007.

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 Adv. Drug Deliv. Rev. 46(1-3), 3- 6. 2001.

LIPINSKI, C. A. Drug-like properties and the causes of poor solubility and poor permeability. J. Pharmacol.Toxicol. Methods 2000, 44, 235.

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. *Adv Drug Deliv Rev*, 2001, 46(1-3):3-26..

LUO, Cheng; HE, Ming-liang; BOHLIN, Lars. Is a COX-2 a perpetrator or a protector? Selective COX-2 inhibitors remain controversial. *Acta Pharmacologia Sinica*. P. 926-933, 2005.

MACARINI, A. F. **Design, Síntese e Atividade In Silico e In Vitro de Heterociclos Pirazólicos como Inibidores da COX-2**. 2019. 109 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade do Vale do Itajaí, Itajaí, 2019.

MAJNO G. *The Healing Hand: Man and Wound in the Ancient World*. Cambridge, MA: Harvard University Press; 1975.

MANTOANI, S.P.; DE ANDRADE, P.; HENRIQUE, C.; DA SILVA, T.D.P. Estimating Protein-Ligand Binding Affinity by NMR. *New Developments in Medicinal Chemistry*, v. 2, p. 170, 2014.

MARCHANT, C. A.; BRIGGS, K. A.; LONG, A. In silico tools for sharing data and knowledge on toxicity and metabolism: derek for windows, meteor, and vitic. *Toxicol. Mech. Methods*, v. 18(2-3), p. 177-87, 2008.

MARNETT, L. J. Cyclooxygenase mechanisms. *Current Opinion in Chemical Biology*, v. 4, n. 5, p. 545-552, 2000/10/01/ 2000.

McCARSON, K.E. Models of inflammation: Carrageenan- or complete freund's adjuvant (CFA)-induced edema and hypersensitivity in the rat. *Curr. Protoc. Pharmacol.* 70:5.4.1-5.4.9., 2015

McCONKEY, B. J.; SOBOLEV, V.; EDELMAN M. The performance of current methods in ligand-protein docking. *Current Science*, v. 83, p. 845-855, 2002.

MICHAUX, C.; CHARLIER, C. Structural Approach for COX-2 Inhibition. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, v. 4, n. 6, p. 603-615, 2012.

MISHRA, N.; BASU, A. Exploring Different Virtual Screening Strategies for Acetylcholinesterase Inhibitors. *Biomed Research International*, 2013.

MORGAN, S. et al. The cost of drug development: A systematic review. *Health Policy*, v. 100, n. 1, p. 4-17, 2011.

MORRIS, G. M.; HUEY, R.; LINDSTROM, W.; SANNER, M. F.; BELEW, R. K.; GOODSELL, D. S.; OLSON, A. J. Autodock4 and autodocktools4: automated docking with selective receptor flexibility. *J. Comput. Chem.*, v. 30 (16), p. 2785-91, 2009.

NIEDERBERGER, E.; TEGEDER, I.; VETTER, G.; SCHMIDTKO, A.; SCHMIDT, H.; EUCHENHOFER, C.; BRÄUTIGAM, L.; GRÖSCH, S.; GEISLINGER, G. Celecoxib loses its anti-inflammatory efficacy at high doses through activation of NF- κ B. *FASEB J.*, v. 15, p. 1622-1664, 2001.

NISSINK, J. W. M. et al. A new test set for validating predictions of protein–ligand interaction. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, v. 49, n. 4, p. 457-471, 2002.

NOGUEIRA, L.J.; MONTANARI, C.A.; DONNICI, C.L. Histórico da evolução da química medicinal e a importância da lipofilia: de Hipócrates e Galeno a Paracelsus e as contribuições de Overton e de Hansch. *Revista virtual de química*, v. 1, n. 3, p. 227-240, 2009.

OPENEYE SCIENTIFIC SOFTWARE. EON, versão 2.0.1. Santa Fe, NM, 2007.

OPENEYE SCIENTIFIC SOFTWARE. ROCS, versão 2.4.1. Santa fé, NM, 2009.

ORCHARD, S. et al. Minimum information about a bioactive entity (MIABE). **Nature Rev. Drug Discov.** 10, 661– 669, 2011.

ORLANDO, B. J.; LUCIDO, M. J.; MALKOWSKI, M. G. The structure of ibuprofen bound to cyclooxygenase-2. **Journal of Structural Biology**, v. 189, n. 1, p. 62-66, 2015.

ORLANDO, Benjamin J.; MALKOWSKI, Michael G. Crystal structure of rofecoxib bound to human cyclooxygenase-2. **Acta Crystallographica Section F: Structural Biology Communications**, v. 72, n. 10, p. 772-776, 2016.

PANCOTE, C. G. Planejamento, síntese e avaliação biológica de derivados pirrólicos com potencial Atividade anti-inflamatória. Tese de doutorado. Universidade de São Paulo. São Paulo, 2009.

PATRICK, G.L. An Introduction to Medicinal Chemistry, v. 2 ed., Oxford University Press, Oxford. 2001.

PEREIRA, Charlane Kelly Souto. Atividade antinociceptiva e anti-inflamatória de *Herissantia cripa* (L.) Brizicky em camundongos. 2013. 123f. Tese (Doutorado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2013.

PhRMA, Pharmaceutical Industry Profile 2011. Washington, DC. 2011. Disponível em: <<http://www.phrma.org/sites/default/files/159/phrmaprofile2011final.pdf>> Acesso em 01 Dez de 2017.

PICCIRILLO, Erika; AMARAL, Antonia. Busca Virtual De Compostos Bioativos: Conceitos E Aplicações. *Química Nova*, v. 41, n. 6, p. 662–677, 2018.

PORTEVIN, B.; TORDJMAN, C.; PASTOREAU, P.; DE NANTEUIL, G. 1,3-Diaryl-4,5,6,7-tetrahydro-2H-isoindole derivatives: a new series of potent and selective COX-2 inhibitors in which a sulfonyl group is not a structural requisite. *J Med Chem.* v. 43(24), p. 4582-93, 2000.

Prieto-Martínez, Fernando & Medina-Franco, Jose. (2018). Diseño de fármacos asistido por computadora: Cuando la informática, la química y el arte se encuentran. TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas. 21. 10.22201/fesz.23958723e.2018.2.6.

PRUEKSARITANONT, Thomayant; TANG, Cuyue. ADME of biologics-what have we learned from small molecules? AAPS Journal, v. 14, n. 3, p. 410–419, 2012.

RAINSFORD, K. D. Ibuprofen: Pharmacology, efficacy and safety. Inflammopharmacology, v. 17, n. 6, p. 275–342, 2009.

RAMOS, R. D. S. et al. Identification of Potential Inhibitors from Pyriproxyfen with Insecticidal Activity by Virtual Screening. Pharmaceuticals, v. 12, n. 1, p. 20, 2019.

RAO, P. P.N.; KABIR, S. N.; MOHAMED, T.. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs): Progress in small molecule drug development. Pharmaceuticals, v. 3, n. 5, p. 1530–1549, 2010.

RAO, P.; KNAUS, E.E. Evolution of nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs): cyclooxygenase (COX) inhibition and beyond. J Pharm Pharm Sci. vol. 11, n. 2, p. 81-110, 2008.

RICHY, F.; BRUYERE, O.; ETHGEN, O.; et al. Time dependent risk of gastrointestinal complications induced by non-steroidal anti-inflammatory drug use: a consensus statement using a meta-analytic approach. Annals of the Rheumatic Diseases. vol. 63 p. 759-766, 2004.

RINDINGS, J. E.; BARRATT, M. D.; CARY, R. Computer prediction of possible toxic action from chemical structure, and update of the DEREK system. Toxicology, v. 106, p. 267-279, 1996.

ROCHA E SILVA, M. O. Brief history of inflammation. In: Handbook of Experimental Pharmacology. Vane, J.R.; Ferreira, S. H. (eds), New York: Springer ñ Verlog, p. 6-25, 1978.

RODRIGUES, R. P.; MANTOANI, S. P.; DE ALMEIDA, J. R.; PINSETTA, F. R.; SEMIGHINI, E. P.; DA SILVA, V. B.; DA SILVA, C. H. P. Estratégias de Triagem Virtual no Planejamento de Fármacos. Revista Virtual de Química, v. 4 (6), p. 739-776, 2012.

RODRÍGUEZ, A.; GUERREIRO, A.; TERÁN, H. G.; RODRÍGUEZ, D.; LOZA, M. I.; ROSELL, G.; BOSCH, M. P. New selective A2A agonists and A3 antagonists for human adenosine receptor: synthesis, biological activity and molecular docking studies. Med. Chem. Commun, v. 6, p. 1178-1185, 2015.

ROGLER, G. Resolution of inflammation in inflammatory bowel disease. *The Lancet Gastroenterology & Hepatology*, v. 1253, n. figure 1, p. 1–10, 2017.

ROWLINSON, S. W. et al. A novel mechanism of cyclooxygenase-2 inhibition involving interactions with Ser-530 and Tyr-385. *J Biol Chem*, v. 278, n. 46, p. 45763–9, Nov 14 2003.

RUSH, T.S.; GRANT, J.A.; MOSYAK, L.; NICHOLLS, A. A shape-based 3-D scaffold hopping method and its application to a bacterial protein-protein interaction. *Journal of Medicinal Chemistry*, v. 48, p. 1489–1495, 2005.

SACKS, L. V. et al. Scientific and regulatory reasons for delay and denial of FDA approval of initial applications for new drugs, 2000–2012. *JAMA - Journal of the American Medical Association*, v. 311, n. 4, p. 378–384, 2014.

SANDERSON, D.M.; EARNSHAW C.G. Computer prediction of possible toxic action from chemical structure; the DEREK system. *Human & Experimental Toxicology*, v. 10, p. 261–273, 1991.

SANT'ANNA, C.M.R.; Glossário de Termos Usados No Planejamento de Fármacos (Recomendações da IUPAC para 1997). *Quím. Nova*, 25(3), 505–512. 2002.

SANTOS, C.B.R.; LOBATO, C.C.; DE SOUSA, M.A.C.; MACÊDO, W.J.D.C., CARVALHO, J.C.T. Molecular Modeling: Origin, Fundamental Concepts and Applications Using Structure-Activity Relationship and Quantitative Structure-Activity Relationship. *Reviews in Theoretical Science*, v.2, n.2, p.91–115, 2014.

SAYERS, R. D. (2002). Aortic aneurysms, inflammatory pathways and nitric oxide. *Annals of The Royal College of Surgeons of England*, 84(4), 239–246. (2002).

SCHRÖDINGER. QikProp: Rapid ADME predictions of drug candidates. Versão 3.4. New York, 2011.

SEDGWICK, D.; WILLOUGHBY, D.A. Initiation of inflammatory response and its prevention. Em: BONT A, I.L., BRA Y , M.A. & P ARNHAM, M.J. *Handbook of Inflammation*. Elsevier. v. 5, p. 25–47, 1985.

SERHAN, C. N.; CHIANG N. Novel endogenous small molecules as the checkpoint controllers in inflammation and resolution: entrée for resoleomics. *Rheum Dis Clin North Am.*, v. 30, p. 69–95, 2004.

SHERWOOD, E. R.; TOLIVER-KINSKY, T. Mechanisms of the inflammatory. Best Practice and Research: Clinical Anaesthesiology, v. 18, n. 3, p. 09.2004, p. 385-405.

SILVA, M.C.C., GAYER, C.R.M., LOPES, C.S., CALIXTO, N.O., REIS, P.A., PASSAES, C.P. B., PAES, M.C; DALMAU, S.R; SABINO, K.C.C.; TODESCHINI, A.R.; COELHO, M. G. P. Acute and topic anti-edematogenic fractions isolated from the seeds of *Pterodon pubescens*. Journal of pharmacy and pharmacology, v. 56, n. 1, p. 135-141, 2004.

SILVA, N. S. R.; SANTOS, C. F.; GONÇALVES, L.K.S.; BRAGA, F. S.; ALMEIDA, J. R.; LIMA, C. S.; BRASIL, D. S. B.; SILVA, C. H. T. P. HAGE-MELIM, L. I. S.; SANTOS, C. B. R. Molecular modeling of the major compounds of sesquiterpenes class in copaíba oil-resin. British Journal oh Pharmaceutical Research, v. 7, n.4, p. 247-263, 2015.

SMITH, F. G. et al. Cyclooxygenase (COX) inhibitors and the newborn kidney. Pharmaceuticals, v. 5, n. 11, p. 1160–1176, 2012.

SOARES, C.C. et al. Atividade analgésica do extrato da *Pectis jangadensis* (S. Moore). Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 19, p. 77-81, jan./mar., 2009.

SOUSA, E. A.; BITTENCOURT, J.A.H.M; et al. Influence Of A Low-Level Semiconductor Gallium Arsenate Laser In Experimental Envenomation Induced By Bothrops Atrox Snake Venom. American Journal of Pharmacology and Toxicology, v. 7, n. 4, p. 141-148, 2012.

SPORTOLETTI, Giancarlo. Pharmaceutical composition having antiphlogistic, antipyretic and analgesic activity. U.S. Patent n. 4,329,340, 11 maio 1982.

TAYLOR, R. F.; JEWSBURY, P. J.; ESSEX, J. W. A review of protein-small molecule docking methods. J Comput Aided Mol Des., v. 16 (3), p. 151-66, 2002.

TERFLOTH, L.; SPYCHER, S.; GASTEIGER, J.. Drug Discovery: An Overview. Applied Chemoinformatics, p. 165–194, 2018.

TESTA, B.; BALMAT, A. L.; LONG, A.; JUDSON, P. Predicting drug metabolism – an evaluation of the expert system METEOR. Chemistry & Biodiversity, v. 2, p. 872-885, 2005.

TORRES, Rafael Carvalho; INSUELA, Daniella Bianchi Reis; CARVALHO, Vinícius de Farias. Mecanismos Celulares E Moleculares Da Ação Antiinflamatória. Corpus et Scientia, v. 8, p. 36–51, 2012.

TSUTSUI, Takeki et al. Benzene-, catechol-, hydroquinone-and phenol-induced cell transformation, gene mutations, chromosome aberrations, aneuploidy, sister chromatid exchanges and unscheduled DNA synthesis in Syrian hamster embryo cells. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, v. 373, n. 1, p. 113-123, 1997.

VANDEWALLE, Jolien et al. Therapeutic Mechanisms of Glucocorticoids. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, v. 29, n. 1, p. 42–54, 2018.

VERGNOLLE, N. Postinflammatory visceral sensitivity and pain mechanisms. *Neurogastroenterology & Motility*, vol. 20 (1) 73-80, maio, 2008.

VONKEMAN, H.E.; VAN DE LAAR, M.A. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs: adverse effects and their prevention. *Seminars In Arthritis And Rheumatism*. vol. 39, p.294-312, 2010.

WANG, Jane L. et al. The novel benzopyran class of selective cyclooxygenase-2 inhibitors-part I: The first clinical candidate. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, v. 20, n. 23, p. 7155–7158, 2010.

WANG, K.; TANG, D.; WANG, M.; LU, J.; YU, H.; LIU, J.; QIAN, B.; GONG, Z.; WANG, X.; CHEN, J.; GU, M.; CHENG, Z. MER3 is required for normal meiotic crossover formation, but not for presynaptic alignment in rice. *J. Cell Sci.*, v. 122 (12), p. 2055-63, 2009.

WANG, Y. et al. In silico ADME / T modelling for rational drug design. 2015

WEBB, D. R. Animal models of human disease: Inflammation. *Biochemical Pharmacology*, v. 87, n. 1, p. 121–130, 2014.

WERMUTH, C.G. The practice of medicinal chemistry. Academic Press, 2011.

WIGGERS, H.J.; ROCHA, J.R.; CHELESKI, J.; MONTANARI, C.A. Integration of Ligand- and Target-Based Virtual Screening for the Discovery of Cruzain Inhibitors. *Molecular Informatics*, v. 30, p. 565-578, 2011

WILLETT, P. Similarity-based virtual screening using 2D fingerprints. *Drug Discovery Today*, v.11, n. 23-24, p. 1046-1053, 2006.

WINIWARTER, S. et al. In silico ADME in drug design – enhancing the impact. *ADMET and DMPK*, v. 6, n. 1, p. 15, 2018

YAMAKAWA M. et al. Fractionation of Sakishima habu (*Trimeresurus elegans*) venom and lethal hemorrhagic and edema forming activities of the fractions. In: Ohsaka A., Hayashi K., Sawai, Y., editors. *Animal, plants and microbial toxins*. 1 ed. New York: Plenum Press, p. 97-109, 1976.

YEE, Shiyin. In vitro permeability across Caco-2 cells (colonic) can predict in vivo (small intestinal) absorption in man—fact or myth. *Pharmaceutical research*, v. 14, n. 6, p. 763-766, 1997.

YOUNG, D. C. *Computational Chemistry – A Practical Guide for Applying Techniques to Real-World Problems*, Cytoclonal Pharmaceuticals Inc. John Wiley & Sons, Inc. Publication New York, 2001.

ZHOU, H.Y.; SHIN, E.M.; GUO, L.Y.; ZOU, L.B.; XU, G.H.; LEE, S.H.; ZE, K.R.; KIM, E.K.; KANG, S.S.; KIM, Y.S. Anti-inflammatory activity of 21 (a,b)-methymelianodiols, novel compounds from *Poncirus trifoliata* Rafinesque. *European Journal of Pharmacology*, 572, 239-248. 2007

ZIMMERMAN, Hyman J. *Hepatotoxicity: the adverse effects of drugs and other chemicals on the liver*. Lippincott Williams & Wilkins, 1999.

ZOETE, V.; GROSDIDIER, A.; MICHIELIN, O. Docking, virtual high throughput screening and in silico fragment-based drug design. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, v. 13, p. 238-48, 2009.

27/04/2020

ScholarOne Manuscripts

 Journal of Biomolecular Structure & Dynamics Home Author Review

Submission Confirmation

 Print

Thank you for your submission

Submitted to

Journal of Biomolecular Structure & Dynamics

Manuscript ID

TBSD-2020-0636

TitleMOLECULAR MODELING APPROACHES TO IDENTIFY ANTI-INFLAMMATORY CANDIDATES FOR
CYCLOOXYGENASE-2 FROM CELECOXIBE**Authors**

Bittencourt, Renata Cristina

bittencourt, jose adolfo

Rosa, Joaquin

dos Santos, Cleudson Breno

Date Submitted

27-Apr-2020

[Author Dashboard](#)