



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAPÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

ANA CAROLINA DE JESUS SILVA

**TRIAGEM VIRTUAL BASEADA EM FARMACÓFORO A PARTIR
DE ALCALOIDES E FLAVONOIDES PARA O PLANEJAMENTO
DE FÁRMACOS COM ATIVIDADE INIBITÓRIA SOBRE A
ENZIMA MONOAMINA OXIDASE B**

Macapá
2023

ANA CAROLINA DE JESUS SILVA

**TRIAGEM VIRTUAL BASEADA EM FARMACÓFORO A PARTIR
DE ALCALOIDES E FLAVONOIDES PARA O PLANEJAMENTO
DE FÁRMACOS COM ATIVIDADE INIBITÓRIA SOBRE A
ENZIMA MONOAMINA OXIDASE B**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Amapá, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Lorane Izabel da Silva
Hage Melim

Macapá
2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
(CIP) Biblioteca Central/UNIFAP-Macapá-AP
Elaborado por Mário das Graças Carvalho Lima Júnior – CRB-2 / 1451

S586 Silva, Ana Carolina de Jesus.

Triagem virtual baseada em farmacóforo a partir de alcaloides e flavonoides para o planejamento de fármacos com atividade inibitória sobre a enzima monoamina oxidase B / Ana Carolina de Jesus Silva. - Macapá, 2023.

1 recurso eletrônico. 124 folhas.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Amapá, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas (PPGCF), Macapá, 2023.

Orientadora: Lorane Izabel da Silva Hage Melim.

Modo de acesso: World Wide Web.

Formato de arquivo: Portable Document Format (PDF).

1. Doença de Parkinson's. 2. Produto natural. 3. Química computacional. I. Melim, Lorane Izabel da Silva Hage, orientadora. II. Universidade Federal do Amapá. III. Título.

CDD 23. ed. – 616.833

SILVA, Ana Carolina de Jesus. **Triagem virtual baseada em farmacóforo a partir de alcaloides e flavonoides para o planejamento de fármacos com atividade inibitória sobre a enzima monoamina oxidase B.** Orientadora: Lorane Izabel da Silva Hage Melim. 2023. 123 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas (PPGCF). Universidade Federal do Amapá, Macapá, 2023.

ANA CAROLINA DE JESUS SILVA

**TRIAGEM VIRTUAL BASEADA EM FARMACÓFORO A PARTIR DE
ALCALOIDES E FLAVONOIDES PARA O PLANEJAMENTO DE FÁRMACOS
COM ATIVIDADE INIBITÓRIA SOBRE A ENZIMA MONOAMINA OXIDASE B**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Amapá, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Data da Aprovação: 28/09/2023

Prof.^a Dr.^a Lorane Izabel da Silva Hage Melim

Rodrigo Alves Soares Cruz

Josivan da Silva Costa

Dedico este trabalho a todos os indivíduos que vivem com a Doença de Parkinson, fonte de minha inspiração para a realização desse estudo.

AGRADECIMENTOS

A palavra agradecimento me remete primeiramente a Deus, que vem me sustentado e me amparado por todos esses anos, onde busco forças para continuar essa caminhada que é árdua, mas ao mesmo tempo gratificante.

Agradeço à minha família, que são os meus maiores incentivadores e que como ninguém acreditam no meu potencial.

À minha mãe, Ana Cristina Ferreira de Jesus, obrigada por todos os ensinamentos, que muita das vezes, parecia difícil de ouvir, mas que no fundo sempre soube que era para me fortalecer cada vez mais.

Ao meu pai, José Sérgio Miranda, agradeço por todo o cuidado, mesmo que demonstrado mais com gestos do que com palavras, saiba que tudo foi essencial.

Ao meu irmão, João Victor de Jesus, que sempre me incentivou a buscar meus sonhos sem desistir, você é minha inspiração.

Agradeço à minha orientadora, Prof^ª. Dr^ª. Lorane Izabel Hage Melim, por todos os conselhos, sempre fornecidos com muita paciência e carinho. Sua orientação me ajudou a me manter no eixo e a não desistir, mesmo com tantas barreiras pelo caminho.

Aos amigos e colegas do Laboratório de Química Farmacêutica e Medicinal (PharMedChem), por todas as trocas de conhecimentos e experiências.

À Universidade Federal do Amapá, por toda a estrutura proporcionada e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas (PPGCF), pela oportunidade e ensinamentos.

Agradeço a todos que de alguma forma colaboraram para a execução dessa dissertação. Muito obrigada!

Introdução: A Doença de Parkinson (DP) é uma patologia neurodegenerativa caracterizada, principalmente, por causar a destruição dos neurônios dopaminérgicos. Em razão da diminuição da concentração da dopamina (DA), diversas funções motoras e cognitivas no cérebro são afetadas. A fisiopatologia ainda não foi totalmente elucidada, porém algumas hipóteses podem explicar os processos envolvidos pelo desencadeamento da doença, e uma delas diz respeito ao estresse oxidativo provocado pela enzima monoamina oxidase B (MAO-B). Com isso, são propostas diferentes terapias medicamentosas com a finalidade de elevar os níveis do neurotransmissor. No entanto, o uso desses medicamentos está associado ao aparecimento de diversos efeitos adversos, situação esta que contribui para a não adesão ao tratamento e como consequência, uma piora no quadro do paciente. Nesse sentido, a busca de moléculas de origem natural é uma alternativa interessante, uma vez que se pretende o uso seguro e melhora na adesão medicamentosa. **Objetivo:** Diante disso, este estudo tem como finalidade avaliar ação inibitória sobre a enzima MAO-B de alcaloides, flavonoides e moléculas obtidas após triagem virtual para o tratamento da doença de Parkinson. **Material e métodos:** A primeira etapa do estudo consistiu na busca na literatura por moléculas de origem natural pertencentes aos grupos dos alcaloides e flavonoides descritas com potencial atividade antiparkinsoniana. Em seguida, originou-se um farmacóforo de cada grupo, por meio do servidor online *PharmaGist* e a partir desse modelo, utilizou-se a plataforma *ZincPharmer* para a triagem virtual. Após obtenção de novas estruturas, foi realizada a predição farmacocinética no programa *QikProp*, toxicológica pelo *DEREK* e avaliação interação ligante-alvo, por meio do *docking* molecular, com o programa *GOLD*. Os servidores *PASS* e *SEA prediction* foram empregados para predição de atividade biológica dos melhores resultados, após análise de todos os parâmetros. **Resultados e discussão:** As análises demonstraram que o grupo dos alcaloides, nas predições ADME/Tox apresentaram resultados mais favoráveis em relação ao grupo dos flavonoides. No entanto, após a triagem do grupo dos flavonoides, foram obtidas moléculas com resultados mais significativos. Quanto ao *docking* molecular, a maioria das moléculas testadas (de todos os grupos) mostrou potencial interação e afinidade com o alvo. Em uma análise mais ampla, de todos os cálculos aplicados, os metabólitos secundários palmatina e genisteína, um alcaloide e flavonoide, respectivamente, e as moléculas ZINC00597214 (triada do grupo dos alcaloides) e ZINC72342127 (triada a partir do grupo dos flavonoides), apresentaram maior potencial de serem candidatos a fármacos em relação às outras estruturas. Na predição de atividade biológica dos melhores resultados, no servidor online *PASS prediction*, somente as moléculas genisteína e ZINC72342127 apresentaram resultados, diferente da predição no *SEA prediction*, que nenhuma apresentou. **Conclusão:** Diante disso, a partir do emprego de métodos computacionais, este estudo demonstrou o potencial antiparkinsoniano de diversas estruturas através da ação inibitória sobre a enzima MAO-B. Estudos futuros e complementares devem ser realizados, de forma a estabelecer melhor as propriedades dessas estruturas, visando com isso, o desenvolvimento de novas terapias farmacológicas a serem disponibilizadas para o tratamento da DP.

Palavras-Chave: Doença de Parkinson; Produtos Naturais; Química computacional; *Docking* molecular, ADME/Tox

Agradecimentos: CAPES

ABSTRACT

Introduction: Parkinson's disease (PD) is a neurodegenerative pathology characterized mainly by causing the destruction of dopaminergic neurons. Due to the decrease in dopamine (DA) concentration, several motor and cognitive functions in the brain are affected. The pathophysiology hasn't yet been fully elucidated, but some hypotheses may explain the processes involved in triggering the disease, and one of them concerns oxidative stress caused by the enzyme monoamine oxidase B (MAO-B). With this, different drug therapies are proposed with the purpose of raising the levels of the neurotransmitter. However, the use of these drugs is associated with the appearance of several side effects, situation that contributes to non-adherence to treatment and, as a consequence, a worsening of the patient's condition. In this sense, the search for molecules of natural origin is an interesting alternative, since safe use and improvement in medication adherence are intended. **Objective:** Therefore, this study aims to evaluate the inhibitory action on the MAO-B enzyme of alkaloids, flavonoids and molecules obtained after virtual screening for the treatment of Parkinson's disease. **Material and methods:** The first stage of the study consisted of a search in the literature for molecules of natural origin belonging to the groups of alkaloids and flavonoids described with potential antiparkinsonian activity. Then, a pharmacophore for each group was generated through the PharmaGist online server and, based on this model, the ZincPharmer platform was used for virtual screening. After obtaining new structures, pharmacokinetic prediction was performed using the QikProp program, toxicological prediction using DEREK and ligand-target interaction evaluation, through molecular docking, using the GOLD program. The PASS and SEA prediction servers were used to predict the biological activity of the best results, after analyzing all the parameters. **Results and discussion:** The analyzes showed that the alkaloids group, in the ADME/Tox predictions, presented more favorable results in relation to the flavonoids group. However, after screening the flavonoids group, molecules with more significant results were obtained. As for molecular docking, most molecules tested (from all groups) showed potential interaction and affinity with the target. In a broader analysis, of all applied calculations, the secondary metabolites palmatin and genistein, an alkaloid and flavonoid, respectively, and the molecules ZINC00597214 (sorted from the alkaloid group) and ZINC72342127 (sorted from the flavonoid group), showed greater potential to be drug candidates compared to other structures. In the prediction the biological activity of the best results, in the PASS prediction online server, only the molecules genistein and ZINC72342127 showed results, different from the prediction in SEA prediction, which none presented. **Conclusion:** Therefore, based on the use of computational methods, this study demonstrated the antiparkinsonian potential of several structures through the inhibitory action on the MAO-B enzyme. Future and complementary studies should be carried out, in order to better establish the properties of these structures, aiming with this, the development of new pharmacological therapies to be made available for the treatment of PD.

Keywords: Parkinson's disease; Natural products; Computational Chemistry; Molecular docking, ADME/Tox

Acknowledgements: CAPES

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Biossíntese do neurotransmissor Dopamina	19
Figura 2 -	Estágios evolutivos da DP	21
Figura 3 -	Principais grupos constituintes da classe dos alcaloides	33
Figura 4 -	Estrutura base dos flavonoides	34
Figura 5 -	Classes do grupo dos flavonoides	34
Figura 6 -	Estrutura química dos alcaloides selecionados	42
Figura 7 -	Estrutura química dos flavonoides selecionados	43
Figura 8 -	Grupamentos farmacofóricos dos alcaloides (A) e flavonoides (B)	50
Figura 9 -	Representação 2D das moléculas triadas dos grupos dos alcaloides, a partir do servidor ZINCPharmer	51
Figura 10 -	Representação 2D das moléculas triadas dos grupos dos flavonoides, a partir do servidor ZINCPharmer	51
Figura 11 -	Grupo responsável pelo sinal de alerta da molécula selegilina	60
Figura 12 -	Grupos toxicofóricos, representados em vermelho, dos alcaloides e moléculas triadas a partir dos alcaloides	61
Figura 13 -	Grupos toxicofóricos, representados em vermelho, dos flavonoides e moléculas triadas a partir dos flavonoides	67
Figura 14 -	Representação da melhor pose do ligante (laranja) comparado com a estrutura obtida no PDB (2BYB), na etapa de validação	71
Figura 15 -	Representação 2D (A) e 3D (B) da simulação do <i>docking</i> da melhor pose da molécula selegilina, no sítio ativo da MAO-B	73
Figura 16 -	Representação 2D e 3D da simulação do <i>docking</i> da melhor pose de cada molécula pertencente ao grupo dos alcaloides, no alvo MAO-B ...	78
Figura 17 -	Representação 2D e 3D da simulação do <i>docking</i> da melhor pose de cada molécula triada a partir do grupo dos alcaloides, no alvo MAO-B.	86
Figura 18 -	Representação 2D e 3D da simulação do <i>docking</i> da melhor pose de cada molécula pertencente ao grupo dos flavonoides, no alvo MAO-B	93
Figura 19	Representação 2D e 3D da simulação do <i>docking</i> da melhor pose de cada molécula triada a partir do grupo dos flavonoides, no alvo MAOB	101

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Estágios evolutivos da DP, segundo Braak e colaboradores	20
Quadro 2	Escala de Hoehn e Yahr modificada, com a descrição dos estágios evolutivos de incapacidade motora	22
Quadro 3	Sintomas não-motores da DP e suas regiões afetadas	22
Quadro 4	Classes medicamentosas utilizados para o tratamento da DP	27
Quadro 5	Parâmetros e valores de referência para predição farmacocinética, de acordo com o <i>software QikProp</i>	53
Quadro 6	Probabilidade de a proposição determinada pelo programa DEREK ser verdadeira	59

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Propriedades farmacocinéticas das moléculas pertencentes ao grupo dos alcaloides, calculadas no <i>software QikProp</i>	56
Tabela 2 -	Propriedades farmacocinéticas das moléculas triadas a partir do grupo dos alcaloides, calculadas no <i>software QikProp</i>	56
Tabela 3 -	Propriedades farmacocinéticas das moléculas pertencentes ao grupo dos flavonoides, calculadas no <i>software QikProp</i>	57
Tabela 4 -	Propriedades farmacocinéticas das moléculas triadas a partir do grupo dos flavonoides, calculadas no <i>software QikProp</i>	58
Tabela 5 -	Predição das propriedades toxicológicas das moléculas pertencentes ao grupo dos alcaloides, pelo programa <i>DEREK</i>	62
Tabela 6 -	Predição das propriedades toxicológicas das moléculas triadas a partir do grupo dos alcaloides, pelo programa <i>DEREK</i>	63
Tabela 7 -	Predição das propriedades toxicológicas das moléculas pertencentes ao grupo dos flavonoides, pelo programa <i>DEREK</i>	65
Tabela 8 -	Predição das propriedades toxicológicas das moléculas triadas a partir do grupo dos flavonoides, pelo programa <i>DEREK</i>	66
Tabela 9 -	Análise da simulação do <i>docking</i> molecular entre a selegilina e a MAO-B	72
Tabela 10 -	Análise da simulação do <i>docking</i> entre as moléculas pertencentes ao grupo dos alcaloides e a MAO-B	74
Tabela 11 -	Análise da simulação do <i>docking</i> entre as moléculas triadas do grupo dos alcaloides e a MAO-B	82
Tabela 12 -	Análise da simulação do <i>docking</i> entre as moléculas pertencentes ao grupo dos flavonoides e a MAO-B	90
Tabela 13 -	Análise da simulação do <i>docking</i> entre as moléculas triadas do grupo dos flavonoides e a MAO-B	95
Tabela 14 -	Probabilidade de atividade e inatividade dos melhores resultados pelo servidor <i>PASS prediction</i>	109

Tabela 15 -	Predição de atividade pelo servidor <i>SEA prediction</i> para avaliação de potencial interação alvo-ligante	110
--------------------	---	-----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

%AOH	Porcentagem de absorção oral humana
2D	Arranjo dimensional
3D	Arranjo tridimensional
6-OHDA	Oxidopamina
ADME	Abosrção, distribuição, metabolismo e excreção
AOH	Absorção oral humana
BHE	Barreira hematoencefálica
Caco-2	Células do adenocarcinoma do cólon humano
CLs	Corpos de Lewy
COMT	Catecol-O-metiltransferase
DA/DOPA	Dopamina
DCAA	Dopamina descarboxilase
DEREK	<i>Deductive Estimate of Risk from Existing Knowledge</i>
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DOPAC	ácido 3,4-dihidroxifenilacético
DP	Doença de Parkinson
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio
FAD	Dinucleótido de flavina e adenina
GOLD	<i>Genetic Optimisation for Ligand Docking</i>
H	Hidrogênio
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
HERG	<i>The Human Ether-a-go-go-Related Gene</i>
HVA	Ácido homovalínico
Hz	<i>Hertz</i>
IMAO-B	Inibidores da monoamina oxidase B
IUPAC	<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>
L-DOPA	Levodopa
LLNA	Ensaio do linfonodo local murino
LogBB	Coefficiente de partição cérebro/sangue

MAO-B	Monoamina Oxidase B
MDCK	<i>Maden Derby Canine Kidney</i>
MPP ⁺	1-metil-4-fenilpiridina
MPTP	1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetraidropiridina
PASS	<i>Prediction of Activity Spectra for Substances</i>
PDB	<i>Protein Data Bank</i>
PET	Tomografia por emissão de pósitron
PN	Peroxinitrito
REA	Relação estrutura-atividade
RMSD	<i>Root-Mean-Square Deviation</i>
SEA	<i>Similarity Ensemble Approach</i>
SNC	Sistema nervoso central
SNC _A	Atividade no sistema nervoso central
SNE	Sistema nervoso entérico
SPECT	Tomografia por emissão de fóton único
TH	Tirosina hidroxilase
Tox	Toxicidade
UKPDS-BB	United Kingdom Parkinson's Disease Society Brain Bank
UPDRS	<i>Unified Parkinsons disease rating scale</i>

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	14
2	OBJETIVOS.....	16
2.1	OBJETIVO GERAL.....	16
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	16
3	REFERENCIAL TEÓRICO.....	17
3.1	DOENÇA DE PARKINSON	17
3.1.1	Epidemiologia	17
3.1.2	Fisiopatologia	18
3.1.3	Sintomas	21
3.1.4	Fatores de risco	24
3.1.5	Diagnóstico	26
3.2	TRATAMENTO FARMACOLÓGICO PARA DOENÇA DE PARKINSON	27
3.2.1	Levodopa e inibidores da dopamina descarboxilase	28
3.2.2	Inibidores da MAO-B (IMAO-B)	29
3.2.3	Agonistas dopaminérgicos	30
3.2.4	Inibidores da COMT	31
3.3	O USO DE PLANTAS PARA O TRATAMENTO DA DOENÇA DE PARKINSON	31
3.3.1	Alcaloides	32
3.3.2	Flavonoides	33
3.4	QUÍMICA COMPUTACIONAL COMO FERRAMENTA PARA O PLANEJAMENTO DE FÁRMACOS	35
4	MATERIAL E MÉTODOS	37

4.1	ELABORAÇÃO DE MODELO FARMACOFÓRICO DE MOLÉCULAS DOS GRUPOS DOS ALCALOIDES E FLAVONOIDES	37
4.2	TRIAGEM VIRTUAL BASEADA EM FARMACÓFORO	38
4.3	PREDIÇÃO DAS PROPRIEDADES FARMACOCINÉTICAS E TOXICOLÓGICAS (ADME/Tox)	39
4.4	<i>DOCKING</i> MOLECULAR UTILIZANDO O PROGRAMA <i>GOLD</i>	39
4.5	PREDIÇÃO DE ATIVIDADE DOS MELHORES RESULTADOS: <i>SEA</i> E <i>PASS</i>	40
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
5.1	BUSCA NA LITERATURA: ALCALOIDES E FLAVONOIDES	42
5.1.1	Alcaloides	43
5.1.2	Flavonoides	46
5.2	DERIVAÇÃO DO FARMACÓFORO	49
5.3	TRIAGEM VIRTUAL BASEADA EM FARMACÓFORO	50
5.4	PREDIÇÃO FARMACOCINÉTICA	52
5.4.1	Grupo dos alcaloides: produtos naturais e moléculas triadas	55
5.4.2	Grupo dos flavonoides: produtos naturais e moléculas triadas	57
5.5	PREDIÇÃO TOXICOLÓGICA	59
5.5.1	Grupo dos alcaloides: produtos naturais e moléculas triadas	61
5.5.2	Grupo dos flavonoides: produtos naturais e moléculas triadas	65
5.6	<i>DOCKING</i> MOLECULAR	71
5.6.1	<i>Docking</i> molecular do grupo dos alcaloides: produtos naturais e moléculas triadas	74
5.6.2	<i>Docking</i> molecular do grupo dos flavonoides: produtos naturais e moléculas triadas	90
5.6	PREDIÇÃO DE ATIVIDADE DOS MELHORES RESULTADOS: <i>SEA</i> e <i>PASS</i>	107
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS	112

REFERÊNCIAS 113

Em decorrência de diversos fatores, como aumento da expectativa e mudanças no estilo de vida, os números de casos de doenças de caráter crônico não transmissível vêm aumentando de forma acentuada. A Doença de Parkinson (DP), atrás somente da Doença de Alzheimer, é a segunda maior causa de neurodegeneração em indivíduos com idade acima dos 60 anos. Sua ocorrência se dá por meio da destruição de neurônios dopaminérgicos, localizados na porção compacta da substância negra. Esses neurônios, por sua vez, são os responsáveis pela síntese do neurotransmissor DA, que é de essencial importância para o correto funcionamento das atividades cognitivas e motoras do cérebro.

A fisiopatologia da doença ainda não foi totalmente elucidada, porém, já são descritas na literatura algumas hipóteses que permitem explicar os possíveis mecanismos envolvidos no processo neurodegenerativo. A primeira está relacionada ao estresse oxidativo provocado pela enzima MAO-B, no qual ao degradar a DA libera espécies reativas de oxigênio. Já a outra hipótese levantada, é em relação à excitotoxicidade provocada em decorrência do acúmulo do neurotransmissor glutamato na região da substância negra. O motivo do desencadeamento desses eventos também não foi totalmente esclarecido, no entanto, estudos sugerem que a etiologia da doença seja multifatorial, podendo ocorrer por fatores ambientais e/ou genéticos.

Diante disso, diversas linhas de pesquisa buscam pelo desenvolvimento de fármacos com atividade antiparkinsoniana, como forma de melhorar a qualidade de vida dos afetados pela doença e com isso, impedir a evolução dos seus sintomas. Dentre estas, o estudo quanto a descoberta de substâncias com capacidade inibitória sobre a enzima MAO-B é um dos principais focos, visto que se pretende com isso, aumentar a concentração de dopamina na fenda sináptica por meio da redução da ação da enzima, além de diminuir a produção de radicais livres. Apesar da proposta, muitos medicamentos disponíveis no mercado que apresentam ação inibitória sobre a MAO-B provocam muitos efeitos adversos, fatores estes que contribuem para a não adesão ao tratamento e consequentemente, ineficácia terapêutica.

Nesse sentido, a busca por estruturas de origem natural parece ser uma alternativa promissora, uma vez que se almeja a diminuição da ocorrência de possíveis efeitos negativos, possibilitando com isso, o desenvolvimento de fármacos que apresentem propriedades

biológicas, além da valorização do uso de espécies vegetais para o tratamento de doenças neurodegenerativas, que pode influenciar de certa forma, no aumento da adesão à farmacoterapia.

Os alcaloides e flavonoides são grupos fitoquímicos de elevada distribuição, muito dos quais com conhecidas propriedades terapêuticas e farmacológicas, inclusive as de ação central, como por exemplo, atividade neuroprotetora e antioxidante, devido a facilidade de penetração pela barreira hematoencefálica (BHE).

Em vista disso, como forma de predizer se estruturas dessas classes possam ter alguma ação frente a DP, em especial a ação inibitória sobre a enzima MAO-B, o estudo *in silico*, por meio do emprego de métodos computacionais, auxilia na determinação de uma possível relação molécula-alvo e permite predizer quais efeitos essa interação pode desencadear. O uso desses recursos possibilita ainda, a otimização de tempo e redução no custo, quando comparados a estudos pré-clínicos, *in vitro* e *in vivo*, que são ensaios mais dispendiosos.

Devido a farmacoterapia limitada e pelos efeitos adversos decorrentes do uso de medicamentos já disponíveis no mercado, além da prevalência da doença, é de suma importância o estudo de outras substâncias, em especial as de origem natural, para o desenvolvimento de fármacos que apresentem atividade antiparkinsoniana, que sejam eficazes e seguros. Com isso, este trabalho tem como objetivo a avaliação *in silico* de moléculas pertencentes aos grupos dos alcaloides, flavonoides e de moléculas triadas a partir desses grupos, com base no modelo farmacofórico, para elucidação de potencial atividade inibitória sobre a enzima MAO-B, como potenciais terapias farmacológicas para a DP.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Obter, a partir de alcaloides e flavonoides, ligantes com potencial atividade inibitória sobre a enzima MAO-B por meio de triagem virtual baseada em farmacóforo.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Determinar propriedades farmacocinéticas e toxicológicas de moléculas pertencentes aos grupos dos alcaloides e flavonoides descritos na literatura;
- b) Aplicar o modelo farmacofórico para triagem virtual baseada em ligante de cada grupo;
- c) Avaliar as propriedades farmacocinéticas e toxicológicas das estruturas triadas;
- d) Detectar as interações intermoleculares entre os ligantes e o alvo MAO-B, por meio de estudo de *docking* molecular;
- e) Definir potencial(is) candidato(s) a fármaco(s) para o tratamento da DP.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 DOENÇA DE PARKINSON

A DP é uma desordem de caráter crônico, neurodegenerativo, progressivo e incapacitante, em que foi inicialmente descrita por James Parkinson no ano de 1817, na publicação “*An Essay on the Shaking Palsy*”, no qual descreveu como sendo uma paralisia agitante, em razão da presença do tremor de repouso, da marcha arrastada, postura encurvada, problemas de sono e constipação nos indivíduos avaliados por James (MEDER et al., 2019; ZESIEWICZ, 2021).

Posteriormente, Jean-Martin Charcot, após observação, acrescentou a bradicinesia e rigidez aos sintomas já descritos e renomeou a condição para doença de Parkinson (ZESIEWICZ, 2021). Por ser uma patologia até então sem cura e de difícil diagnóstico, inúmeras pesquisas são desenvolvidas de forma a compreender melhor os mecanismos patológicos envolvidos, além de possibilitar a descoberta de novas abordagens terapêuticas.

3.1.1 Epidemiologia

Considerada como o distúrbio de movimento mais frequente e como a segunda doença neurodegenerativa mais prevalente, ficando atrás somente da Doença de Alzheimer, a condição afeta milhares de indivíduos em todo o mundo (BALESTRINO; SCHAPIRA, 2020; ZESIEWICZ, 2021). Estima-se que a doença atinja cerca de 1% da população mundial com idade ≥ 65 anos e que a prevalência pode aumentar até o dobro no ano de 2030 (AARSLAND et al., 2021). Nos países industrializados, a estimativa da Doença é de 0,3% de toda a população, sendo desse grupo 1% de pessoas com idade acima de 60 anos e 3% de pessoas com idade acima dos 80 anos (BALESTRINO; SCHAPIRA, 2020). A incidência em pessoas com idade inferior aos 50 anos é considerada como incomum, mas que com o avanço da idade, é aumentada de maneira proporcional, tendo um maior pico na faixa entre 85 a 89 anos (ARMSTRONG; OKUN, 2020; ZESIEWICZ, 2021).

No Brasil, segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), em decorrência da elevação da expectativa de vida da população no país, o número de casos de

peessoas com a doença aumentou. Estima-se que aproximadamente 220 mil pessoas vivem com a DP, no qual, das faixas etárias entre os 60 e 69 anos, a proporção de acometimento é de 7 para cada 1000 indivíduos e no grupo de pessoas entre 70 e 79 anos essa proporção aumenta, passando para 15 a cada 1000 indivíduos, sugerindo assim, que a cada ano surgem cerca de 36 mil novos casos (SILVA et al., 2021).

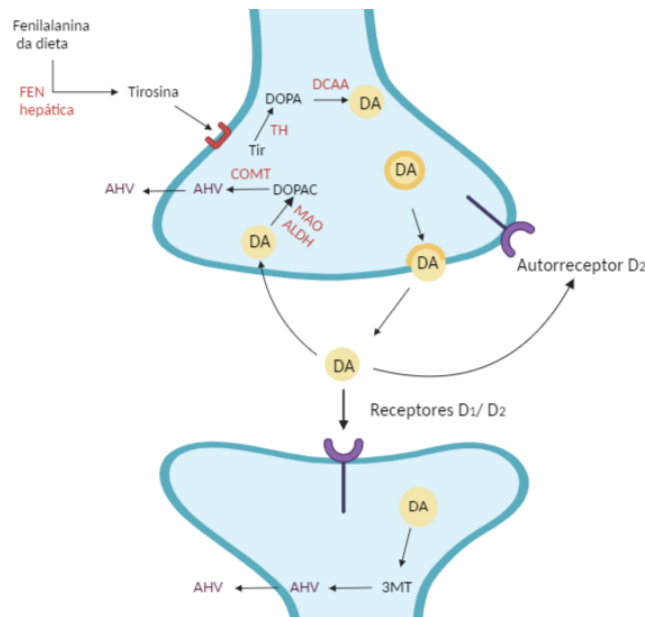
3.1.2 Fisiopatologia

A DP é caracterizada principalmente por causar a destruição de neurônios dopaminérgicos, localizados na porção compacta da substância negra (SIMON; TANNER; BRUNDIN, 2020). Estes, por sua vez, são os responsáveis pela síntese do neurotransmissor dopamina [4-(2-aminoethyl)benzene-1,2-diol], que ao ser reduzida a sua produção, o desempenho das funções cerebrais é afetado, uma vez que o neurotransmissor está diretamente relacionado com as atividades motoras e cognitivas do cérebro (MEDER et al., 2019).

O motivo pelo qual o processo de neurodegeneração é desencadeado ainda não foi totalmente estabelecido, porém já foram descritas na literatura algumas hipóteses, dentre as quais a que diz respeito ao estresse oxidativo provocado pela enzima MAO-B, que é responsável pela metabolização da dopamina DA, em que ao realizar a degradação do neurotransmissor, gera a produção e consequente liberação de radicais livres (DEZSI; VECSEI, 2017).

Na Figura 1, está representada a via sintética da DA, demonstrando como uma desregulação pode favorecer o desencadeamento de diversos processos lesivos no cérebro. A síntese é iniciada quando a tirosina é convertida em levodopa ou L-DOPA (L-3,4 dihidroxifenilalanina) pela ação da enzima tirosina hidroxilase (TH). Em seguida, a L-DOPA é transformada em DA pela ação da enzima DOPA descarboxilase (DCAA), no neurônio pré-sináptico e depois é então liberada. Para sua metabolização, após a recaptação pelos neurônios dopaminérgicos ou células gliais, ocorre a desaminação oxidativa, que é uma reação catalisada pela enzima MAO-B, que tem como produto o ácido 3,4-dihidroxifenilacético (DOPAC). Por fim, o DOPAC é então convertido em um metabólito inativo, o ácido homovalínico (HVA), por meio da enzima catecol-O-metil transferase (COMT) (ZAHOR; SHAFI; HAQ, 2018).

Figura 1 – Biossíntese do neurotransmissor Dopamina



Fonte: Adaptado de (BRUNTON; CHABNER; KNOLLMANN, 2012)

A MAO-B, que é a isoforma mais presente no cérebro, além de degradar a DA, é capaz de metabolizar a neurotoxina 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetraidropiridina (MPTP), que vem sendo muito utilizada, inclusive, para a indução da DP em modelos experimentais, justamente por estar relacionada com surgimento da doença. A MPTP, ao ser oxidada pela MAO-B, pode originar um produto, também neurotóxico, o íon MPP^+ (1-metil-4-fenilpiridina) que inibe a atividade do complexo mitocondrial I, que resulta na liberação de radicais livres e dano celular, podendo levar assim, à morte celular (DEZSI; VECSEI, 2017; TAN; JENNER; CHEN, 2022).

Outra hipótese muito discutida quanto a fisiopatologia refere-se à excitotoxicidade, em que ocorre devido ao acúmulo do neurotransmissor glutamato na substância negra. Como grande parte dos sinais excitatórios é mediado pelo glutamato, é crucial manter os níveis desse neurotransmissor em uma faixa fisiológica para a manutenção das atividades cognitivas, motoras e sensoriais (IOVINO; TREMBLAY; CIVIERO, 2020).

Além disso, a MAO-B também está envolvida no acúmulo do glutamato, e junto aos radicais livres, podem causar danos moleculares, que dá início a um processo inflamatório e contração excessiva dos músculos, além de causarem disfunção no mecanismo de autofagia mitocondrial, importante para a eliminação de agregados tóxicos, favorecendo ainda mais na formação de depósitos inflamatórios (HAGE-MELIM et al., 2019).

Em decorrência de todos esses processos inflamatórios, oxidativos e disfunções mitocondriais, pode ocorrer a formação dos chamados corpos de Lewy (CLs), muito utilizados, inclusive, como marcadores para identificação *post mortem*. Os CLs são inclusões intraneurais, arredondadas, eosinofílicas, que apresentam um núcleo hialino e um halo periférico, compostos por mais de 90 proteínas existentes na substância negra do mesencéfalo, principalmente pela proteína α -sinucleína, que pode formar, como consequência, agregados amiloides neurotóxicos (KALIA; LANG, 2015). Essa agregação e deposição da proteína está associada à morte das células produtoras de DA (ARMSTRONG; OKUN, 2020), uma vez que os intermediários desse processo são formas oligoméricas e protofibrilares tóxicas, responsáveis pela perda de função mitocondrial, lisossomal e proteassomal, além de danificarem membranas biológicas, o citoesqueleto, causando assim, a disfunção na sinapse e por consequência, degeneração neuronal (DICKSON, 2018; BALESTRINO; SCHAPIRA, 2020; TRAVAGLI; BROWNING; CAMILLERI, 2020).

É importante ressaltar que mesmo que o sistema dopaminérgico seja o mais associado à DP, sabe-se que doença se estende também a outros do SNC, como os colinérgicos, serotoninérgicos e noradrenérgicos. E como forma de confirmar que a doença não afeta somente o sistema dopaminérgico e ratificando o modelo da progressão neuropatológica desenvolvido por Braak e colaboradores (2003), foi definido ao todo seis estágios evolutivos da DP (TEIVE, 2019; MARINO et al., 2020) (Quadro 1).

Quadro 1 – Estágios evolutivos da DP segundo Braak e colaboradores

Estágios	Características
Estágio 1	Acometimento do núcleo dorsal dos nervos glossofaríngeo e vago, além da zona reticular intermediária e núcleo olfatório.
Estágio 2	Comprometimento adicional dos núcleos da rafe, núcleo reticular gigantocelular e do complexo lócus ceruleous.
Estágio 3	Comprometimento da parte compacta da substância do mesencéfalo.
Estágio 4	Comprometimento das regiões prosencefálicas, mesocórtex e temporal.
Estágio 5	Comprometimento das neocórtex e neocórtex pré-frontal.
Estágio 6	Acometimento das áreas pré-motoras e área motora primária.

Fonte: (BRAAK et al., 2003).

Nos estágios 1 e 2, característicos da fase precoce, ocorre um comprometimento na medula e no bulbo olfatório, associados a distúrbios comportamentais do sono e redução do olfato (hiposmia). Quanto aos estágios 3 e 4, a desordem atinge as regiões da substância negra, mesencéfalo e prosencéfalo basal, que configura no aparecimento dos sintomas motores característicos da doença. Já os de fases mais avançadas, ocorre comprometimento no córtex cerebral, afetando as funções cognitivas (ARMSTRONG; OKUN, 2020) (Figura 2).

Figura 2 – Estágios evolutivos da DP

Fonte: Adaptado de Doty (2012)

3.1.3 Sintomas

Quadro 2 – Escala de Hoehn e Yahr modificada, com a descrição dos estágios evolutivos de incapacidade motora.

Estágio	Característica
1	Apenas envolvimento unilateral.
1,5	Envolvimento lateral e axial.
2	Envolvimento bilateral sem prejuízo do equilíbrio.
2,5	Doença bilateral leve, com recuperação no “teste do empurrão”.
3	Doença bilateral leve a moderada; apresenta instabilidade postural; fisicamente independente.
4	Incapacidade avançada; capaz de andar ou ficar em pé sem ajuda.
5	Precisa ficar de cadeira de rodas ou acamado, a menos que seja auxiliado.

Fonte: (SIMON; TANNER; BRUNDIN, 2020).

No entanto, sintomas não motores (quadro 3) também são característicos da doença, dos quais muitos se manifestam antes dos acometimentos motores em si, na chamada fase prodrômica da doença. São incluídos a esses sintomas, os distúrbios comportamentais do sono, perda olfativa (hiposmia), constipação, disfunção urinária, hipotensão ortostática, sonolência diurna excessiva e problemas psiquiátricos, como ansiedade e depressão (ARMSTRONG; OKUN, 2020). Além disso, sintomas gastrointestinais também são muito associados à fase precoce, como disfagia, esvaziamento gástrico retardado, sialorreia, constipação grave, disfunção anorretal, além da incontinência fecal. Inclusive, já foram apontadas evidências em que demonstraram acúmulo da α -sinucleína no sistema nervoso entérico (SNE), encontradas a partir de biópsia da mucosa (TRAVAGLI; BROWNING; CAMILLERI, 2020).

Nos estágios mais avançados, ocorre o comprometimento cognitivo, como ansiedade, depressão, perda de memória, podendo alcançar até mesmo manifestações de demência (ARMSTRONG; OKUN, 2020).

Segundo Armstrong e colaboradores (2020), um dos sintomas sensoriais mais comuns, principalmente na fase inicial da doença, é a hiposmia, que atinge um número maior que 90% de indivíduos com DP. Outros distúrbios, como os visuais, acometem cerca de 22-78% e os somatossensoriais, de 30 a 85%. Conforme a doença progride, os sintomas autonômicos evoluem, como a constipação, hipotensão ortostática e disfunção urinária. E em estágios mais avançados, sintomas neuropsiquiátricos ficam mais acentuados, tendo a ansiedade (60%),

apatia (60%) e depressão (35%) como sintomas característicos. A psicose pode acometer um número considerável de indivíduos atingindo cerca de 40% dos indivíduos, nas fases mais avançadas da doença.

Quadro 3 – Sintomas não-motores da DP e suas regiões afetadas

Sintomas não-motores	Região afetada	Neurotransmissor envolvido
Hiposmia	Bulbo olfatório e amígdala	Substância P e acetilcolina
Visualização de cores prejudicadas	Retina	Dopamina
Alucinações	Córtex occipital	Dopamina
Dor	Gânglio da base, locus ceruleus, núcleo de rafe, amígdala e tálamos	Dopamina, serotonina e noradrenalina
Ansiedade	Gânglio da base	Dopamina e noradrenalina
Depressão	Área límbica e cortical	Dopamina e noradrenalina
Disfunção cognitiva precoce	Córtex frontal	Dopamina
Demência	Lobos temporais, parietais e occipitais	Acetilcolina
Perturbação do sono	Hipotálamo e formação reticular	Orexina, dopamina e serotonina
Hiperreflexia	Gânglio da base	Dopamina e acetilcolina

Fonte: (SCHAPIRA; CHAUDHURI; JENNER, 2017).

De forma a avaliar o estágio em que se encontra um paciente, a Escala Unificada de Avaliação da Doença de Parkinson (*Unified Parkinsons disease rating scale* – UPDRS), é muito utilizada para analisar os vários aspectos sintomatológicos relacionados à doença, desde sintomas motores até os não-motores relatados pelos pacientes. Essa escala é dividida em quatro partes: 1. Experiências não-motoras da vida diária; 2. Experiências motoras; 3. Exame motor; e 4. Complicações motoras. Essa escala é importante para a escolha de tratamento usual para o paciente, de acordo com o estágio evolutivo da doença (GOETZ et al., 2008).

3.1.4 Fatores de risco

Mesmo que, de maneira geral, a DP seja considerada de origem idiopática, fatores ambientais e genéticos estão associados ao surgimento da doença (ARMSTRONG; OKUN, 2020). A idade é o principal fator de risco, no qual quanto mais avançada, maiores as chances de desenvolvimento de DP, sendo mais prevalente em pessoas do sexo masculino, com uma proporção de aproximadamente de 3:2 (TOLOSA et al., 2021).

A exposição a agentes tóxicos também é considerada potencial risco, levando em consideração o número de casos de pessoas com a doença que vivem em regiões rurais e que possuem contato contínuo com agentes tóxicos, a exemplo de pesticidas, herbicidas e metais pesados (ARMSTRONG; OKUN, 2020; BALESTRINO; SCHAPIRA, 2020). De forma a comprovar essa associação, foi constatado que alguns pesticidas como paraquat, rotenona, 2,4-D e derivados de carbamatos, causam o parkinsonismo experimental (SIMON; TANNER; BRUNDIN, 2020). O Brasil, como sendo um dos países em que a economia é baseada fundamentalmente na agricultura, é como consequência, um dos maiores consumidores de agrotóxicos do mundo (RENATA et al., 2020) e isto pode contribuir, de certa forma, para uma associação quanto ao surgimento de casos de pacientes com doenças neurodegenerativas, incluindo o Parkinson, que são expostos continuamente à essas substâncias.

Isto, por sua vez, confirma os achados descritos por Braak e colaboradores (2003), no qual por meio da hipótese do duplo golpe descreve que um xenobiótico pode entrar em contato com o organismo por meio das vias aéreas e pelo sistema gastrointestinal, através das secreções nasais e salivares, e depois consegue atravessar a barreira do trato gastrointestinal, infectando os neurônios entéricos e invadindo os neurônios motores parassimpáticos do nervo vago. Com isso, como o SNE e bulbo olfatório não possuem barreira para selecionar substâncias que possam ter contato com o SNC, isso pode desencadear um processo inflamatório e assim, favorecer o surgimento da DP (ERRO; BHATIA; TINAZZI, 2015).

Não somente agrotóxicos, mas o uso excessivo de algumas drogas e outras substâncias, como por exemplo, antagonistas dos receptores β_2 adrenérgicos, hábitos como o alcoolismo, traumas e isquemia cerebral estão relacionados à etiologia (HAGE-MELIM et al., 2019). Em contrapartida, estudos relatam que o contato com outras substâncias ou até alguns costumes podem reduzir os riscos, como o tabagismo, consumo de café e o uso de bloqueadores de cálcio e estatinas (BALESTRINO; SCHAPIRA, 2020).

Associado à exposição ambiental com predisposição genética, os riscos aumentam consideravelmente (SIMON; TANNER; BRUNDIN, 2020). Estima-se que cerca de 5-10% dos casos ocorrem em decorrência das alterações genéticas. Com isso, histórico familiar é um fator agravante, em especial quando o indivíduo possui parentesco de primeiro grau, no qual as chances de desenvolvimento do quadro aumentam em duas a três vezes (BALESTRINO; SCHAPIRA, 2020).

O gene SNCA, responsável pela codificação da α -sinucleína, foi o primeiro a ser associado à patogênese da doença, sendo a A53T a primeira mutação identificada por Polymeropoulos e colaboradores (ELKOUZI et al., 2019; SIMON; TANNER; BRUNDIN, 2020). Consideradas do tipo autossômica dominante, por duplicações ou triplicações, essas mutações podem aumentar a produção e deposição da α -sinucleína, além de alterarem as modificações pós-transcricionais e/ou interações com outras organelas e sistemas de transporte (BALESTRINO; SCHAPIRA, 2020; ELKOUZI et al., 2019).

Presente em cerca de 1 a 2% de todos os pacientes com DP e em 5% na DP do tipo familiar, o gene LRRK2 confere a doença na forma autossômica dominante (SIMON; TANNER; BRUNDIN, 2020). A mutação nesse gene interfere na autofagia e reduz a degradação da α -sinucleína, propiciando ainda mais seu acúmulo (BALESTRINO; SCHAPIRA, 2020).

As formas autossômicas recessivas da DP de início precoce são associadas a mutações nos genes PARKIN33 e PINK134, que levam ao comprometimento do processo de degradação lisossomal conhecido por “mitofagia”, no qual resulta no acúmulo de mitocôndrias disfuncionais. Além disso, o gene PARKIN regula de forma indireta da PGC-1 α , um regulador transcricional que coordena a expressão de genes importantes para a biogênese mitocondrial. Ainda nas formas autossômicas recessivas de início precoce, o gene DJ-1 possui associação com a DP, visto que a mutação desregula diversos mecanismos, como o NRF2 (Fator nuclear associado ao fator 2), um fator importante para a regulação da resposta antioxidante e a síntese de glutatona (SIMON; TANNER; BRUNDIN, 2020).

Outro gene muito associado, é o GBA, em que é o responsável pela codificação da glucocerebrosidase (GCase). Na ocorrência de mutações nesse gene, os riscos da DP aumentam aproximadamente quatro vezes, além de elevar as chances de desenvolvimento de demência (SIMON; TANNER; BRUNDIN, 2020), uma vez que está relacionado ao acúmulo da α -

sinucleína, estresse do retículo endoplasmático e disfunção mitocondrial (BALESTRINO; SCHAPIRA, 2020).

3.1.5 Diagnóstico

O diagnóstico é baseado, de uma maneira geral, em duas vertentes: histórico clínico e exame físico. O primeiro tem como principal finalidade a avaliação de todos os sinais e sintomas apresentados pelo paciente ao longo de sua vida e correlacionar com o histórico familiar. Para o exame físico, um dos critérios mais avaliados é quanto a detecção dos sinais cardinais ou motores da doença (ARMSTRONG; OKUN, 2020).

De acordo com alguns autores, para ser considerada como uma doença clinicamente estabelecida, ou seja, baseada por meio desses sinais clínicos, sem ter a confirmação patológica, os indivíduos devem atender ao menos 2 dos 4 critérios: 1. Apresentar tremor de repouso; 2. Apresentar melhora significativa ao utilizar uma terapia dopaminérgica; 3. Apresentar discinesias induzidas pela levodopa; 4. Ter perda olfatória ou desnervação simpática cardíaca no exame de imagem cintilografia miocárdica, que avalia a captação de norepinefrina cardíaca, no qual esta, por sua vez, depende que a função neuronal simpática pós-ganglionar esteja intacta (reduzida na DP) (ARMSTRONG; OKUN, 2020).

Com a proposta de estabelecer melhor o diagnóstico e diferenciar de outras síndromes parkinsonianas, foi desenvolvido pela sociedade United Kingdom Parkinson's Disease Society Brain Bank (UKPDS-BB), alguns critérios clínicos segmentados em etapas, que auxiliam na análise por profissionais. A primeira etapa refere-se ao diagnóstico da síndrome parkinsoniana, em que consiste na detecção da bradicinesia em associação com ao menos um de três outros fatores, que são: detecção de rigidez muscular; tremor de repouso (4 a 6 Hz) e instabilidade postural. A etapa dois, está relacionada com critérios de exclusão da doença, no qual serão excluídos indivíduos com histórico de acidentes vasculares cerebrais repetidos com progressão gradual de características parkinsonianas; histórico de traumatismo craniano; histórico de encefalite aguda; entre outros sintomas que indicam outras condições de parkinsonismos. Por fim, a etapa três consiste na aplicação de critérios que suportem ser a doença de Parkinson, como início unilateral, presença de tremor de repouso, desordem progressiva e dentre outros, que fornecem indícios clínicos da doença (CLARKE et al., 2016).

Além da avaliação clínica, já são empregados alguns exames de imagem que podem ser aplicados para a análise tecidual e utilizados como suportes para a confirmação do diagnóstico, como a tomografia por emissão de pósitron (PET) e a tomografia por emissão de fóton único (SPECT), que permitem avaliar a função da DA, uma vez que se detecta os traços de atividade e tempo que os marcadores se distribuem (ARMSTRONG; OKUN, 2020; KALIA; LANG, 2015).

3.2 TRATAMENTO FARMACOLÓGICO PARA DOENÇA DE PARKINSON

São diversas as terapias farmacológicas para o tratamento da DP que agem sob diferentes alvos moleculares e nos mais variados mecanismos de ação. Em suma, o objetivo principal das terapias antiparkinsonianas é possibilitar a elevação das concentrações de DA nas fendas sinápticas, com a finalidade de estimular o sistema dopaminérgico e impedir assim, a progressão dos sintomas e possibilitar maior qualidade de vida ao paciente (Quadro 4).

No entanto, em decorrência de alguns fatores, como idade, características socioeconômicas, falta de apoio familiar, necessidade do uso associado de medicamentos, que incide na polifarmácia, além dos efeitos colaterais provocados por esses medicamentos, a baixa adesão à farmacoterapia é favorecida, tendo como consequência então, em maiores chances para a progressão da doença.

Quadro 4 – Classes de medicamentos utilizados para o tratamento da DP.

Composto	Mecanismo	Indicação
Levodopa	Precursor de dopamina	Sintomas motores da DP (rigidez muscular, tremores, espasmos e controle muscular deficiente).
Carbidopa	Inibidor de dopamina descarboxilase	Terapia combinada com levodopa.
Rasagilina	Inibidor da MAO-B	Terapia combinada com levodopa e estágios iniciais da DP.
Selegilina		Terapia combinada com levodopa e estágios iniciais da DP.

Safinamida		Combinado com levodopa e carbidopa para tratar episódios de "desgaste" (rigidez muscular, perda de controle muscular) em paciente com DP.
Apomorfina	Agonista dopaminérgico	Trate episódios de "enfraquecimento" em pessoas com DP avançada.
Bromocriptina		Tratar sintomas da DP.
Pramipexol		Tratar sintomas da DP.
Entocapona	Inibidor da COMT	Terapia combinada com levodopa/carbidopa.
Tolcapona		Terapia combinada com levodopa/carbidopa.

Fonte: (MAO et al., 2020).

3.2.1 Levodopa e inibidores da dopamina descarboxilase

Para o tratamento dos sintomas motores, a levodopa é o fármaco mais indicado, sendo inclusive considerado como uma terapia de primeira escolha, uma vez que consegue atravessar a barreira hematoencefálica (BHE) e ser convertida em DA nos neurônios dopaminérgicos, que ainda se encontram na região compacta da substância negra (BIE et al., 2020). Apesar de reduzir esses sintomas, principalmente os motores, a levodopa pode causar diversos efeitos colaterais, incluindo os dopaminérgicos periféricos, como náusea e hipotensão. Estes sintomas, por sua vez, podem ser tratados com o uso associado a um inibidor de descarboxilase, como a carbidopa ou benzerazida, que não são tão eficazes quanto a levodopa para atenuação dos sintomas motores, mas que auxiliam na redução desses efeitos adversos. Outros sintomas, como alucinações, confusão, sonolência, distúrbios de controle de impulso, também podem ser originados a partir do uso da levodopa, o que contribui ainda mais para a não adesão à terapia pelos pacientes (BALESTRINO; SCHAPIRA, 2020).

Além disso, a utilização da levodopa pode causar também outras complicações motoras, como as flutuações motoras, discinesia, distonia e desgaste muscular (RAY CHAUDHURI; POEWE; BROOKS, 2018). Geralmente sua ocorrência se dá quando a neurodegeneração está avançada, ou seja, quanto mais grave a neurodegeneração, maior o risco associado ao uso da levodopa e por esse motivo, o medicamento geralmente é prescrito para uso somente nos estágios iniciais da doença (BIE et al., 2020). Somando como mais um agravante quanto ao seu

uso, a levodopa, por apresentar um tempo de meia-vida curto, possui a necessidade que seja administrada, geralmente, em múltiplas doses diárias (BUHMANN et al., 2023).

3.2.2 Inibidores da MAO-B (IMAO-B)

Essa classe de medicamento tem como principal fundamento a diminuição do metabolismo da DA e com isso, permite maior estimulação dopaminérgica na fenda sináptica. Geralmente são empregados nos estágios iniciais da doença, uma vez que melhoram a sintomatologia motora e provocam menos efeitos colaterais quando comparado com a levodopa. Em estágios mais avançados, são muito utilizados em associação com outras classes para reduzir ou impedir as flutuações motoras, além da necessidade de uso da levodopa (ZAHOOOR; SHAFI; HAQ, 2018). Por meio de alguns ensaios clínicos, constatou-se que o uso de IMAO-B poderiam retardar a deterioração motora e necessidade de terapia dopaminérgica adicional (BALESTRINO; SCHAPIRA, 2020).

A selegilina foi o primeiro fármaco a ser descoberto com ação inibitória sob a MAO-B e é conhecido como o mais potente inibidor da enzima, que age bloqueando seletivamente o metabolismo e como consequência a degradação da DA, que eleva seus níveis e melhora, assim, os sintomas motores (TÁBI et al., 2020; WANG et al., 2023). Não somente isso, bloqueia a recaptação da DA na fenda sináptica, prolongando sua ação, e possibilita ainda a diminuição da acinesia e discinesia induzida por levodopa, e por esse motivo é muito utilizada em associação com este medicamento (WANG et al., 2023). Com características semelhantes à selegilina, a rasagilina é uma opção que pode ser utilizada, uma vez que inibe irreversivelmente a MAO-B (TÁBI et al., 2020).

Outro fármaco da classe é a safinamida, que apresenta duplo mecanismo (dopaminérgico e não-dopaminérgico) e é aprovado para o tratamento das flutuações motoras em pacientes com DP. É um inibidor reversível da MAO-B altamente seletivo, que possibilita o aumento dos níveis extracelulares da DA no corpo estriado. Não somente isto, devido ao duplo mecanismo, é bloqueador dos canais de Na^+ dependente de voltagem, modulador dos canais de Ca^{2+} e inibe a liberação estimulada de glutamato (ABBRUZZESE et al., 2021).

Apesar das propriedades, estudos indicam falta de efeito neuroprotetor da selegilina e rasagilina em ensaios clínicos, o que limita a aplicação desses medicamentos. Os principais efeitos colaterais provocados pela selegilina são acinesia e hipotensão. Além disso, pelo fato de

a selegilina e rasagilina serem inibidores irreversíveis da MAO-B, pois se ligam covalentemente ao alvo, as chances de ocorrência de efeitos adversos são maiores, quando comparado à safinamida. No entanto, o uso deste último pode causar retinopatias e outros distúrbios clínicos em pacientes hepáticos. Por isso, há a necessidade de estudos de novas propostas terapêuticas com ação inibitória sobre a enzima MAO-B (SINGH et al., 2023).

3.2.3 Agonistas dopaminérgicos

Os agonistas dopaminérgicos são medicamentos que estimulam os receptores pós-sinápticos da DA. Foram inicialmente desenvolvidos para serem utilizados como terapia adjuvante à levodopa em pacientes com DP avançada com complicações motoras, mas também podem ser utilizados em monoterapia para casos leve e moderado, e em pacientes mais novos, de forma a retardar o uso da levodopa e seu risco de complicações motoras (TORTI et al., 2019). Apesar de apresentarem ação para sintomas motores, os agonistas dopaminérgicos não são tão eficazes quanto a levodopa, porém causam menos efeitos colaterais relacionados às complicações motoras (BALESTRINO; SCHAPIRA, 2020). Os medicamentos constituintes dessa classe são divididos em dois grupos: derivados do *ergot* e os não-*ergot*.

O pramipexol, que possui alta afinidade pelos receptores D₂, D₃ e D₄, é o agonista dopaminérgico não-*ergot* mais prescrito para o tratamento da DP, e pode ser usado como monoterapia ou em associação. Seu mecanismo de ação não é totalmente elucidado, porém acredita-se que o fármaco estimule os neurônios dopaminérgicos estriatais (TORTI et al., 2019; WILSON et al., 2020). O ropirinol é outro fármaco de escolha que age ativando seletivamente os receptores D₂/D₃ da DA, no qual comparado à outros medicamentos, possui tempo de meia-vida longo (TORTI et al., 2019; ZHU; CHEN, 2021).

Introduzida como a primeira terapia adjuvante da levodopa, a bromocriptina é um derivado *ergot* semissintético com ação simpatolítica e potente agonista dos receptores D₂ dopaminérgicos pós-sináptico, podendo agir também como agonista parcial dos receptores D₁, além de ter a ação de inibir a liberação do glutamato. Age ativando, preferencialmente, nos receptores pré-sinápticos da DA, que provoca alterações bioquímica, estimulando, por sua vez, a sinalização dopaminérgica nos gânglios da base (NAZ et al., 2022). Já a apomorfina, também um derivado ergolínic, é um agonista de curta duração dos receptores D₁ e D₂, com eficácia

comprovada igual à da levodopa, no entanto, possui menor tempo de início e duração de efeito (CARBONE et al., 2019; TORTI et al., 2019).

Alguns estudos, ao avaliarem os efeitos pós-comercialização desses medicamentos, constataram a ocorrência de efeitos colaterais como transtornos do controle de impulsos, que limitam o uso da classe medicamentosa na prática clínica. Os derivados do *ergot*, atualmente, não são tão empregados, visto que apresentam alguns riscos significativos, como fibrose da válvula cardíaca, vasoespasma, eritomelalgia, fibrose pleuropulmonar e retroperitoneal (TORTI et al., 2019).

3.2.4 Inibidores da COMT

Outra classe empregada para o tratamento da doença refere-se aos inibidores da enzima COMT, pois reduzem a degradação da DA endógena, preservando seus níveis. Esses medicamentos geralmente são utilizados como terapia adjuvante da levodopa, uma vez que aumentam a sua meia-vida e prolongam sua duração de ação (ZAHOOOR; SHAFI; HAQ, 2018). Os principais medicamentos pertencentes à classe são a entocapona e tolcapona. O primeiro inibe a COMT apenas a nível periférico, enquanto que a tolcapona pode atingir os SNC, que permite por sua vez, maior prolongamento e estabilização das concentrações do neurotransmissor (SCHRAG, 2005).

O uso desses medicamentos está associado a um variado conjunto de efeitos colaterais, como disfunções gastrointestinais, autonômicos e do SNC. Além disso, o uso da tolcapona, quando relacionada à dose, está associada com quadros de hepatotoxicidade aguda, por isso a necessidade de acompanhamento e restrição com pacientes hepatopatas (KLIETZ et al., 2019).

3.3 O USO DE PLANTAS MEDICINAIS PARA O TRATAMENTO DA DOENÇA DE PARKINSON

Como muitos medicamentos sintéticos provocam muitos efeitos colaterais, a busca por substâncias de origem natural para o planejamento de fármacos com atividade antiparkinsoniana tem ganhado força. Além disso, a população passa a ver com bons olhos essas alternativas terapêuticas, com a valorização do uso de plantas para o tratamento de doenças

neurodegenerativas, possibilitando com isso, maior adesão seguida de eficácia terapêutica (VIJAYAKUMAR et al., 2016).

São muitas linhas de pesquisas em que diferentes espécies vegetais, nas suas mais variadas composições, são exploradas para as mais diversas patologias, inclusive para a DP, no qual objetiva-se descobrir, por meio disso, fármacos que apresentem atividades neuroprotetoras, anti-inflamatórias e antioxidantes, com efeitos tóxicos e adversos reduzidos.

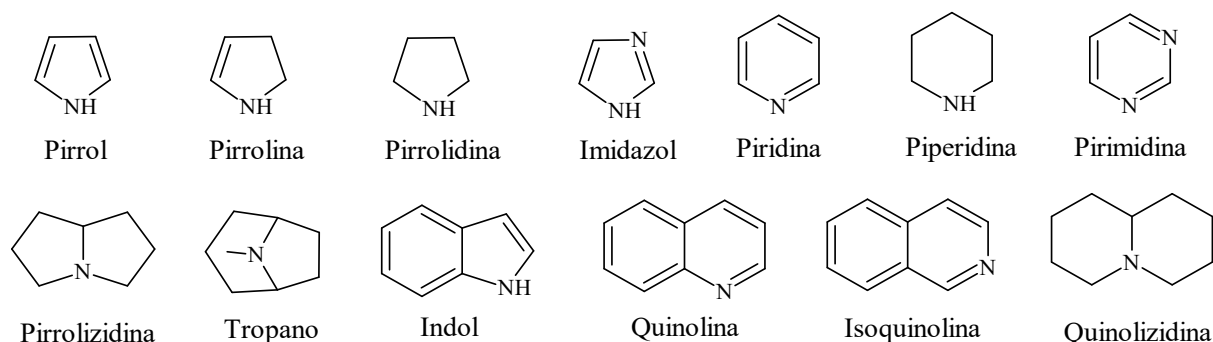
3.3.1 Alcaloides

Introduzido por W. Meinsers no início do século XIX, o termo alcaloide foi empregado para designar substâncias de origem natural que reagem como uma base, ou seja, apresentam característica básica ou alcalina (KUKULA-KOCH; WIDELSKI, 2017; BRIBI, 2018). São substâncias produzidas por diversas espécies, sendo com maior frequência por plantas, mas podem também ser produzidas, em menor proporção, por animais, bactérias e fungos (SCHLÄGER; DRÄGER, 2016; ROY, 2017; BRIBI, 2018).

Os alcaloides são quimicamente caracterizados por serem substâncias, geralmente de baixo peso molecular e que apresentam um átomo de nitrogênio incorporado a um anel heterocíclico, sendo então classificados em aminas primárias, secundárias, terciárias e quaternárias. Nos tecidos vegetais, essas substâncias podem estar presentes nas formas de sais, ésteres, combinados com taninos ou açúcares e são solúveis em água (ANISZEWSKI, 2015; KUKULA-KOCH; WIDELSKI, 2017).

Com isso, o número de substâncias que fazem parte desse grupo é extenso e por isso são de difícil classificação. De forma a definir melhor, os alcaloides podem ser divididos de acordo com os grupos químicos, que são: pirrolidina, piridina, quinolina, isoquinolina, quinazolina, diterpenoide, entre outros (Figura 3). Outra forma de classificação é quanto a divisão de acordo com a origem, que distinguem os grupos em três categorias, em alcaloides verdadeiros, que são compostos derivados de aminoácidos e possui o nitrogênio no anel heterocíclico; proto-alcaloides, que são compostos que contém um nitrogênio derivado de um aminoácido, mas que não faz parte de um anel heterocíclico, e por fim, os pseudo-alcaloides, que não são originados dos aminoácidos (ROY, 2017).

Figura 3 – Principais grupos constituintes da classe dos alcaloides



Fonte: Adaptado de Roy (2017)

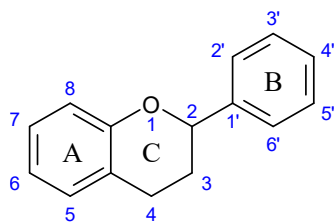
Devido à variedade e grande distribuição na natureza, essas moléculas são altamente estudadas pela indústria farmacêutica como substâncias com potenciais efeitos farmacológicos, para o tratamento de diversas doenças, incluindo as que acometem o SNC, principalmente por possuírem facilidade de penetração pela BHE (ROY, 2017). Não somente isto, os alcaloides são atrativos para a elaboração de produtos farmacêuticos em decorrência de possuírem potente ação em doses baixas, e por esse motivo, a realização de pesquisas para o desenvolvimento de fármacos a partir de substâncias dessa classe são atrativas (KISHIMOTO et al., 2016).

3.3.2 Flavonoides

Os flavonoides fazem parte de um conjunto de metabólitos secundários que são constituídos basicamente por um anel benzopirona, contendo um grupo fenólico ou polifenólico em diferentes posições (PRITHVIRAJ KARAK, 2019; ULLAH et al., 2020). Na natureza, são produzidos em abundância por várias espécies pertencentes ao reino vegetal, como frutas, vegetais, cereais, caules, flores e sementes (PANCHE; DIWAN; CHANDRA, 2016; ULLAH et al., 2020).

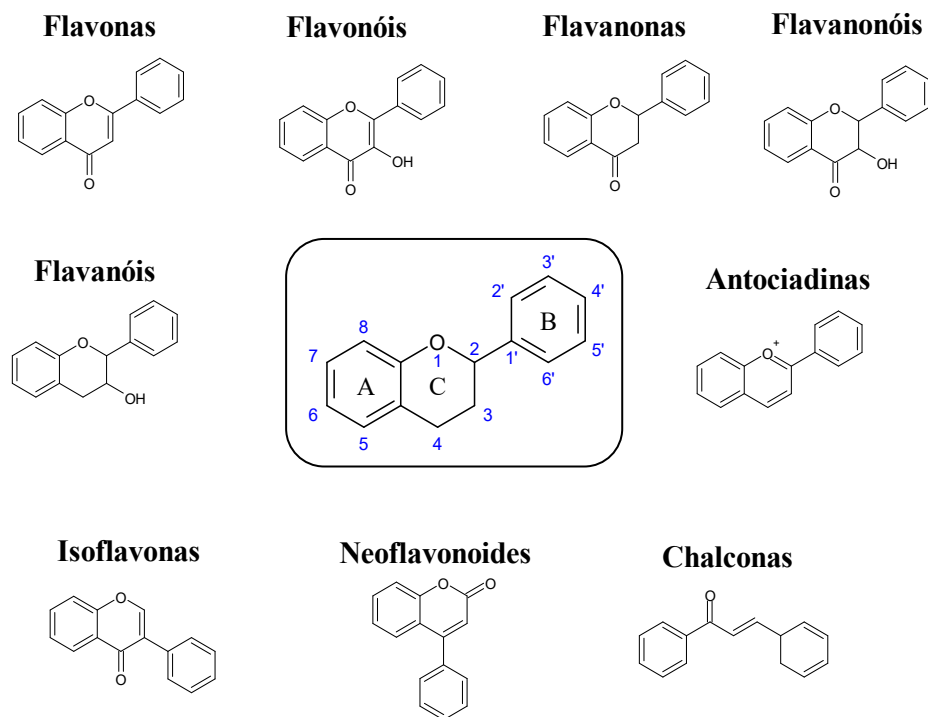
A estrutura química básica consiste na presença de um difenil propano, contendo 15 átomos de carbono no núcleo principal. Os anéis A e B são ligados entre si através do terceiro anel pireno heterocíclico, contendo o átomo de oxigênio, conforme observado na figura 4 (DIAS; PINTO; SILVA, 2021; KARAK, 2019). Basicamente, os flavonoides são classificados de acordo com a estrutura química, grau de insaturação e oxidação do anel de carbono (PANCHE; DIWAN; CHANDRA, 2016; ULLAH et al., 2020).

Figura 4 – Estrutura base dos flavonoides



Flavonoides em que o anel B está ligado à posição 3 do anel C são pertencentes ao grupo das isoflavonas. Os que a ligação do anel B com a posição 4 do anel C são chamados de neo-flavonoides. Já os que estão ligados à posição dois são subclassificados em vários outros grupos, que são: flavonas, flavonóis, flavanonas, flavanonóis, flavanóis ou catequinas, antocianinas e chalconas (Figura 5) (KARAK, 2019).

Figura 5 – Classes do grupo dos flavonoides



Fonte: Karak (2019)

A esses compostos são atribuídas diversas atividades biológicas com valor medicinal, como atividade anti-inflamatória, anticarcinogênica, antimicrobiana, antiviral, antiangiogênica, antidiabética, antibacteriana, antimalárica, antioxidante, antitumoral, neuroprotetora, além da capacidade de modularem funções chaves de enzimas e serem conhecidos como potentes

inibidores enzimáticos, agindo sob diferentes receptores, inclusive os do SNC (DIAS; PINTO; SILVA, 2021; PANCHE; DIWAN; CHANDRA, 2016; ULLAH et al., 2020).

Uma das atividades que são associadas a essa classe é quanto ao potencial antioxidante, por protegerem as células contra o estresse oxidativo de espécies reativas de oxigênio (EROs), que são muito associados a diversas patologias, como doenças cardiovasculares, câncer, diabetes e doenças neurodegenerativas, como a Doença de Alzheimer e Parkinson (PANCHE; DIWAN; CHANDRA, 2016; KARAK, 2019). Sabe-se que as EROs são produzidas pelo organismo principalmente em processos da cadeia de transporte de elétrons, apresentando importância na fosforilação proteica, em fatores transcricionais, na apoptose, imunidade e processos de diferenciação. No entanto, ao reagir com lipídios, proteínas ou ácidos nucleicos, os EROs causam estresse oxidativo, que pode desencadear desequilíbrio no potencial de membrana e osmótico, interferindo assim, em diversos processos, inclusive, podendo causar morte celular (ULLAH et al., 2020). Os flavonoides, assim como outros antioxidantes, interferem na produção de radicais livres, protegendo as células de possíveis danos (PANCHE; DIWAN; CHANDRA, 2016).

3.4 QUÍMICA COMPUTACIONAL COMO FERRAMENTA PARA O PLANEJAMENTO DE FÁRMACOS

Sabe-se que a pesquisa e o desenvolvimento de fármacos envolvem processos que demandam tempo e requerem alto investimento. Diante disso, como vão surgindo continuamente diversas propostas de candidatos à fármacos, o emprego da química computacional permite a otimização e redução de gastos na pesquisa e o estudo de diferentes compostos para a aplicação de variados fins (TUVI-ARAD, 2022). Integrada à outras áreas do conhecimento, como a biológica, médica e farmacêutica, permite a aplicação de ferramentas que possibilitam a avaliação das propriedades físico-químicas, farmacocinéticas, potencial de toxicidade, interação ligante-receptor e os mecanismos envolvidos de diferentes moléculas em um tempo hábil, antes da aplicação dos estudos *in vitro* e *in vivo* (WANG et al., 2015).

Nesse sentido, o *design* de drogas, auxiliado por métodos computacionais permite, com isso, a descoberta, o desenvolvimento e análise de estruturas químicas com propriedades bioquímicas semelhantes, antes de serem sintetizadas (SABE et al., 2021). O estudo quanto a relação estrutura-atividade (REA) entre o ligante e o alvo é primordial para a avaliação dos

possíveis efeitos que a interação pode causar e de como essa interação ocorre. Por esse motivo, ter o conhecimento quanto às particularidades estruturais e químicas de cada molécula possibilita estabelecer as características biológicas e contribuir com isso, para o melhor delineamento de potenciais candidatos a fármacos para o tratamento de diferentes doenças, nos mais variados alvos terapêuticos. É possível analisar uma molécula, tanto a nível tridimensional quanto à energia envolvida, determinar comportamento conformacional e estereoquímico, além de compreender as propriedades e possível comportamento durante diversos processos químicos ou físicos (TUVI-ARAD, 2022).

Outra possibilidade que a química computacional possibilita é em refinar uma busca a partir de um modelo ou aplicação de filtros e obter moléculas com características semelhantes estruturalmente, sendo muitas das quais pouco conhecidas. Com isso, a triagem virtual é um método computacional que possibilita a seleção de moléculas a partir de uma biblioteca de compostos químicos e identifica qual(is) apresenta(m) maior probabilidade de interagir com um alvo e prever possível comportamento no organismo (GIORDANO et al., 2022).

Para tanto, é realizado o emprego de programas computacionais, *softwares* específicos e banco de dados disponíveis em redes para avaliação de diferentes propriedades químicas e biológicas, que fornecem dados importantes sobre uma molécula e se pode ser definida como uma estrutura promissora com potencial farmacológico e terapêutico (WINIWARTER et al., 2018).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 ELABORAÇÃO DE MODELO FARMACOFÓRICO DE MOLÉCULAS DOS GRUPOS DOS ALCALOIDES E FLAVONOIDES

Em um primeiro momento, identificou-se moléculas constituídas dos grupos alcaloides e flavonoides descritos em três artigos de revisão com potenciais atividades antiparkinsonianas. O primeiro artigo analisado foi o elaborado por Zhang e colaboradores com o título “*Recent advances in Discovery and development of natural products as source for anti-Parkinson’s disease lead compounds*”, publicado no ano de 2017. Já o segundo foi um trabalho elaborado por Rabiei et al. (2019), com o título “*Phytotherapy in treatment of Parkinson disease: a review*”. Por fim, o último artigo analisado foi o com o título “*Multifunctional role of natural products for the treatment of Parkinson disease: At a glance*”, elaborado por Rahman e colaboradores, no ano de 2022. A busca foi realizada por meio da aplicação dos descritores: “*parksinon disease*” and “*natural products*”.

Após identificação de todas as estruturas descritas nos artigos de revisão, cada molécula foi então pesquisada no banco de dados *PubChem* (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) e obtida a sua estrutura bidimensional (2D), no formato .sdf. Para a otimização das moléculas, utilizou-se o programa *HyperChem*, com o emprego do método semi-empírico *Recife Model 1* (RM1) (GUTOWSKA; MACHOY; MACHALIŃSKI, 2005), com posterior adição e correção das cargas parciais no programa *Discovery Studio Visualizer* (DSV), para “limpar” a geometria e diminuir a energia envolvida nas moléculas.

Após essa última etapa, as moléculas de cada grupo fitoquímico foram compactadas em diferentes pastas, para serem então inseridas no webservidor *PharmaGist* (<http://bioinfo3d.cs.tau.ac.il/Pharmagist/>), no qual possibilita o alinhamento de diferentes estruturas químicas, sem a necessidade de selecionar uma molécula pivô, e identifica posteriormente, as regiões semelhantes do conjunto, através de dados quantitativos por meio do *score* (SCHNEIDMAN-DUHOVNY et al., 2008), para a elaboração do farmacóforo, que servirá como modelo para a triagem virtual.

4.2 TRIAGEM VIRTUAL BASEADA EM FARMACÓFORO

A visualização e descrição dos grupos farmacofóricos, em 3D, foi realizada através da plataforma online *ZINCPharmer* (<http://zincpharmer.csb.pitt.edu/>). O farmacóforo permite capturar a natureza e o arranjo tridimensional de grupos químicos que são importantes para interações com os alvos moleculares (SCHNEIDMAN-DUHOVNY et al., 2008; SCHALLER et al., 2020). O *ZINCPharmer* possibilita ainda a busca por moléculas semelhante, de acordo com as características estruturais, que estão contidas nas coleções de moléculas do servidor, a partir do modelo farmacofórico, ou seja, através do alinhamento de um conjunto de outras moléculas, são gerados milhares de isômeros conformacionais de compostos em menos de 1 minuto. Os resultados podem ser visualizados instantaneamente ou até mesmo ser realizado o *download* das moléculas triadas (KOES; CAMACHO, 2012).

Para refinar a busca, o servidor permite a aplicação de filtros, conforme o que se deseja para o estudo. Podem ser definidos o número limite de orientações para cada conformação ('Max Hits per Conf'), o número de orientação de conformações para cada molécula ('Max Hits per Mol'), o número total de alvos ('Max Total Hits') e o Desvio da Raiz Quadrada Média ('RMSD') que calcula a orientação dos *hits*, restringindo somente aos que possuem melhor geometria (KOES; CAMACHO, 2012).

Outro refinamento que pode ser aplicado é quanto ao peso molecular, parâmetro importante para definição de moléculas em que se pretende estudar com ação a nível central, uma vez que para atravessar a barreira hematoencefálica o tamanho molecular interfere (ideal de até 400 g/mol⁻¹), sendo esta, inclusive, uma das principais características de drogas utilizados na prática clínica que apresentam ação central (PARDRIDGE, 2012).

Na presente pesquisa, utilizou-se como parâmetro limite para "Max Hits per Conf" e "Max Hits per Mol" o valor de 1 e para RMSD, de 1,5 e peso molecular menor que 400 g/mol⁻¹. Essa triagem possibilitou a busca de moléculas com diferentes conformações, sendo não isômeros, a partir do farmacóforo, no banco *ZINC Purshasable*.

4.3 PREDIÇÃO DAS PROPRIEDADES FARMACOCINÉTICAS E TOXICOLÓGICAS (ADME/Tox)

A compreensão de como um fármaco alcança o local de ação configura a chamada farmacocinética, que envolve as etapas de absorção, distribuição, biotransformação e eliminação do organismo. A depender das propriedades físico-químicas das moléculas, a farmacocinética será diferente, podendo ter maior resposta terapêutica e com menor ocorrência de efeitos adversos (VRBANAC; SLAUTER, 2016).

As propriedades farmacocinéticas dos grupos de moléculas foram determinadas por meio do *software QikProp*, no qual oferece dados relacionados ao ADME (absorção, distribuição, metabolização e excreção) (NTIE-KANG, 2013). Os parâmetros avaliados no programa foram os de: predição qualitativa da absorção oral humana (AOH); predição da porcentagem de absorção oral humana (%AOH); permeabilidade celular nas células Caco-2 (pCaco-2) e MDCK (pMDCK); penetração na barreira hematoencefálica (logBB); predição de atividade no Sistema Nervoso Central (SNC_A); predição na atividade bloqueadora nos canais HERG (logHERG).

Quanto ao potencial tóxico das moléculas estudadas, foi utilizado o programa DEREK (*Deductive Estimate of Risk from Existing Knowledge*), onde este permite relacionar a estrutura molecular com toxicidade, por meio de uma série de informações contidas no banco de dados do programa (MARCHANT, 1996).

Para essa etapa do estudo, a substância selegilina foi escolhida como molécula padrão ou de referência a ser utilizada para comparativo com os resultados das moléculas de interesse para este trabalho, uma vez que a selegilina é uma das primeiras escolhas terapêuticas classificadas como IMAO-Bs.

4.4 DOCKING MOLECULAR UTILIZANDO O PROGRAMA GOLD

Para a avaliação da interação entre os ligantes e a proteína MAO-B, utilizou-se o método de *docking* molecular, no qual permite o reconhecimento, tanto a nível estrutural quanto na predição da afinidade das ligações, além de determinar o melhor encaixe (pose) de uma molécula no sítio ativo (MORRIS; LIM-WILLBBY, 2008). Baseado no algoritmo genético (GA), o *GOLD* (*Genetic Optimisation for Ligand Docking*) é um programa muito utilizado para

otimizar tempos de encaixe e aumentar a probabilidade de se encontrar o melhor encaixe de um ligante em um alvo (VERDONK et al., 2003).

A capacidade preditiva do modelo *in silico*, foi determinado por meio do método de validação (*redocking*). Como geralmente as estruturas cristalográficas estão complexadas a outros ligantes, a validação é empregada justamente para estabelecer se o programa é capaz de determinar a orientação espacial do ligante no sítio, ou seja, reproduzir o resultado experimental. Essa etapa do estudo permite a identificação das coordenadas de origem, o valor do RMSD (*Root Mean Square Deviation*) e raio de validação (PIROLLA, 2018).

A estrutura cristalográfica da MAO-B utilizada nesta dissertação (PDB: 2BYB), foi obtida por meio do banco de dados PDB (*Proteins Data Bank*), em que está complexada com o deprenyl (selegilina), e apresenta resolução de 2.20 Å.

Após a validação do alvo selecionado no PDB, realizou-se então, também no programa GOLD, o *docking* da selegilina (molécula de referência) e de todas as moléculas (produtos naturais e triadas), como forma de estabelecer os melhores resultados, em relação às interações intermoleculares e afinidade com o alvo, quando comparadas com a molécula de referência selegilina, que é um inibidor seletivo e irreversível da MAO-B.

4.5 PREDIÇÃO DE ATIVIDADE DOS MELHORES RESULTADOS: *SEA* E *PASS*

A última etapa do estudo consistiu em prever se, após análise, as melhores propostas apresentam potencial atividade biológica, a partir da aplicação de dois servidores em rede. Com acurácia média de 89%, o primeiro refere-se ao *PASS prediction (prediction of activity spectra for substances)*, em que é baseado em uma série de cálculos matemáticos, com a aplicação do descritor NMA (multiníveis vizinhos dos átomos), para prever possíveis efeitos biológicos, nos mais variados mecanismos, de diferentes substâncias a partir da estrutura química (LAGUNIN et al., 2000; FILIMONOV et al., 2014).

Já o segundo servidor é o *SEA prediction (Similary esemble approach)*, desenvolvido por Keiser e colaboradores, no ano de 2007, e como o próprio nome indica, avalia a capacidade de uma substância de interagir com determinado alvo, a partir da similaridade estrutural, quando comparada à outras, contidas no banco de dados (WANG et al., 2016).

Não somente isso, para melhor fundamentar os resultados a partir dos diferentes cálculos aplicados e determinar se outros estudos já estão sendo realizados para avaliação da atividade

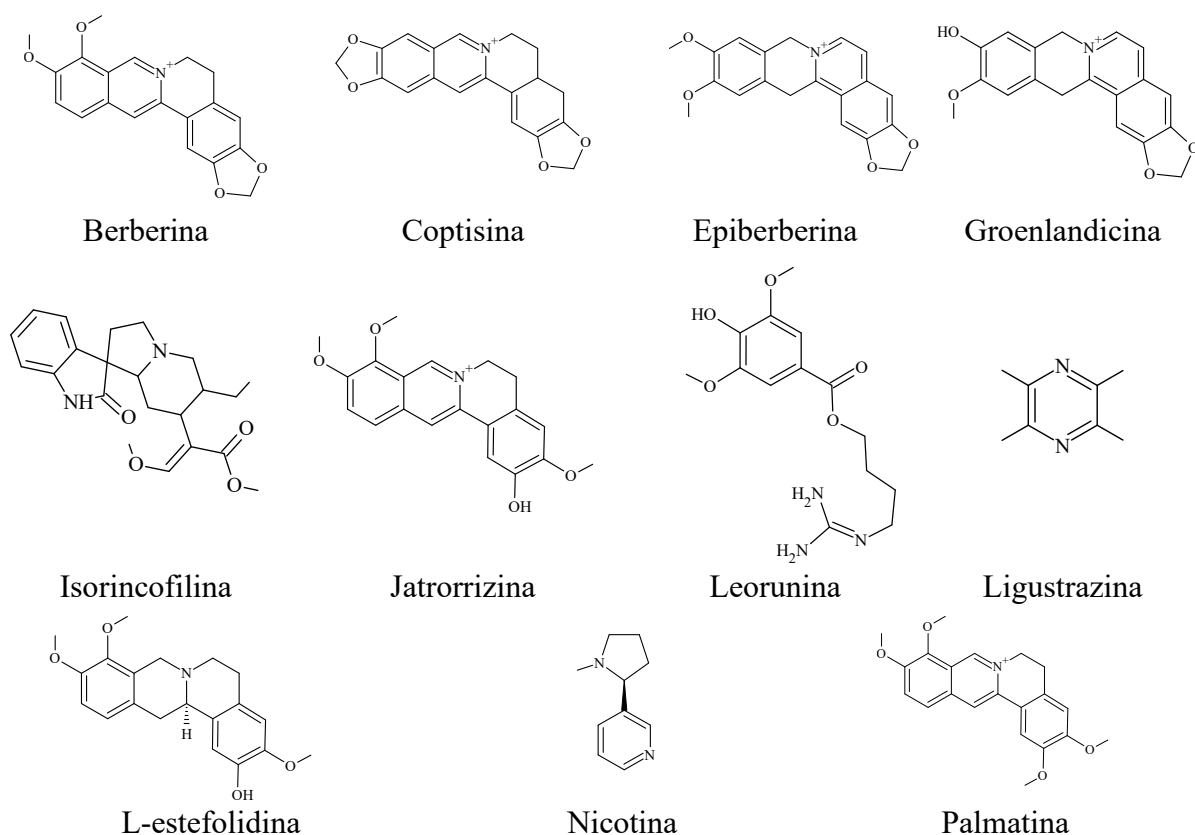
de interesse para este estudo (inibição da MAO-B), foi realizada uma pesquisa no banco de dados *Cortellis Drug Discovery Intelligence* (CDDI), que fornece diversas informações, integradas a várias áreas do conhecimento, como a farmacologia, biologia e química, em relação à diferentes estruturas e seus análogos.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 BUSCA NA LITERATURA: ALCALOIDES E FLAVONOIDES

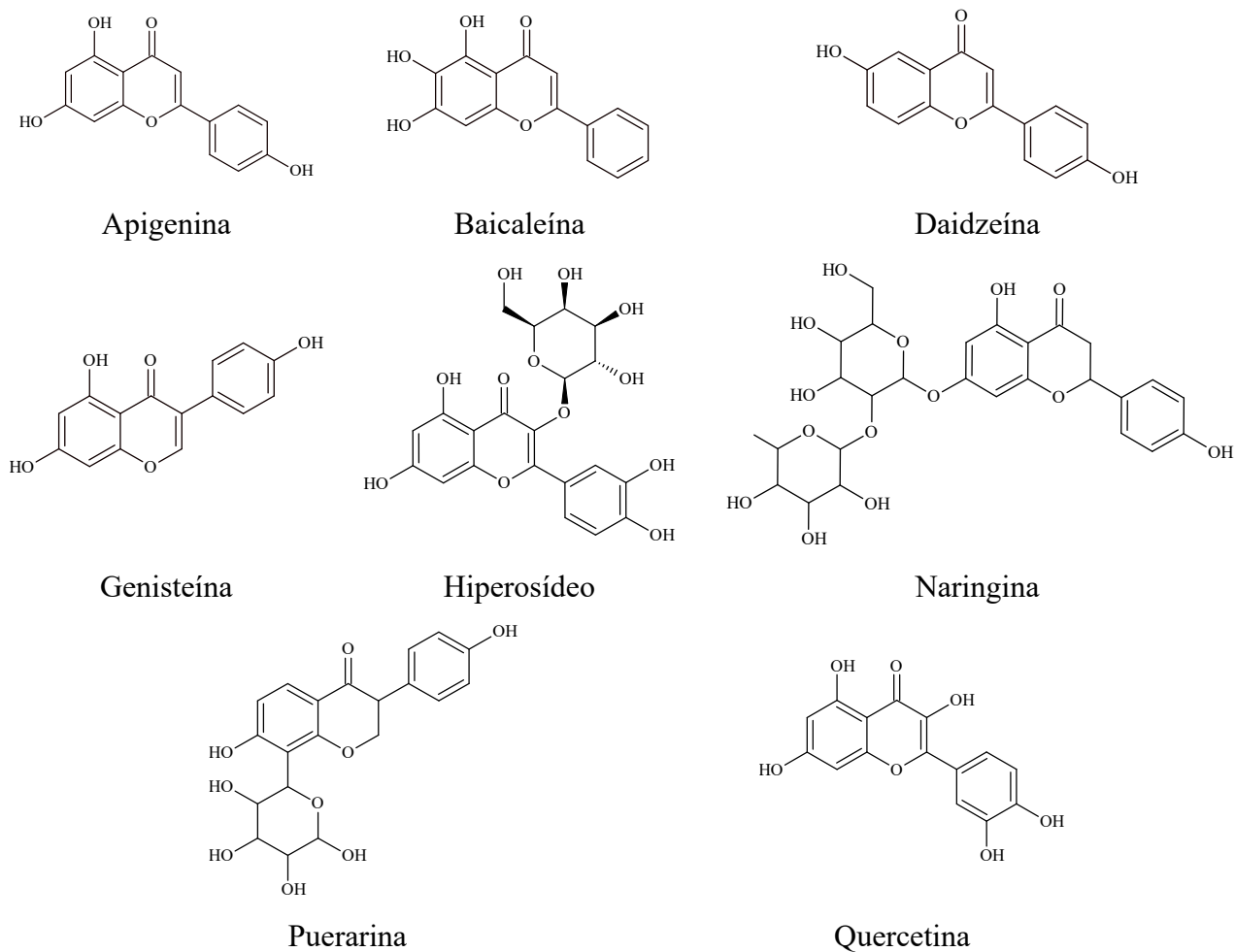
Ao todo, foram descritos nos três artigos de revisão, onze alcaloides: berberina, coptisina, epiberberina, groenlandicina, isorincofilina, jatrorrizina, leorunina, ligustrazina, L-estefolidina, nicotina e palmatina (Figura 6) e nove flavonoides, dos quais, três flavonas (apigenina, baicaleína, daidzeína), duas isoflavonas (genisteína e puerarina), uma flavanona (naringina), um flavonol (quercetina) e um glicosídeo de flavonol (hiperosídeo), com potencial atividade antiparkinsoniana, devido às suas características neuroprotetoras, antioxidantes e anti-inflamatórias (Figura 7).

Figura 6 – Estrutura química dos alcaloides selecionados



Fonte: Autoria própria

Figura 7 – Estrutura química dos flavonoides selecionados



Fonte: Autoria própria

5.1.1 Alcaloides

A berberina é um alcaloide pertencente à classe das isoquinolinas, que pode ser isolado da espécie *Coptis chinensis* e de qualquer outra planta do gênero *Berberis*, possui conhecidas propriedades farmacológicas, inclusive as neuroprotetoras, devido à alta facilidade em penetrar pela BHE (OCH; PODGÓRSKI; NOWAK, 2020; SONG; HAO; FAN, 2020). Em estudos *in vitro*, foi reportado que a berberina protege as células induzidas por glutamato, peróxido de hidrogênio, por meio da estimulação do receptor do glutamato (NMDA) e também por hipóxia induzida por um gás tóxico, o fosgênio (CoCl_2) (AHMED et al., 2015). Em baixas concentrações, diminuiu a citotoxicidade induzida pela toxina 6-OHDA (Oxidopamina) em células PC12, além de proteger animais da espécie *Danio rerio*, popularmente conhecido por

Zebrafish, de danos por meio da ativação de mecanismo de sobrevivência celular e pela ativação de vias de sinalização antioxidante, a, de danos por meio da ativação de mecanismo de sobrevivência celular e de vias de sinalização antioxidante, como também de reduzir a apoptose induzida por citomegalovírus em células do gânglio, e conseqüentemente, diminuindo a geração de radicais livres (SONG; HAO; FAN, 2020).

No entanto, em concentrações elevadas pode aumentar a citotoxicidade induzida pelo 6-OHDA nas células PC12, que favorece a neurodegeneração dos neurônios dopaminérgicos na substância negra de ratos. Por isso a necessidade de estudos complementares em relação à berberina, para melhor estabelecer possíveis efeitos colaterais (AHMED et al., 2015).

Possivelmente, a berberina pode exercer os efeitos antioxidantes na DP por meio da ativação das expressões PI3K/Akt, p38, Nrf2 e HO⁻¹, importantes mediadores para inibição da liberação de EROs (DADGOSTAR et al., 2022). Em um estudo desenvolvido por Kim et al. (2014), ao administrar berberina em animais (ratos) induzidos por MPTP, observou-se que o alcaloide melhorou o equilíbrio e coordenação motora, além de estimular a memória curta, possivelmente pela inibição do processo de apoptose no hipocampo.

De forma a avaliar a atividade neuroprotetora do extrato da *Coptis chinensis* (Franch), espécie vegetal que tem como constituintes a berberina, epiberberina, coptisina, jatrorrizina e palmatina, Friedemann e colaboradores (2016), realizaram ensaios *in vitro* com células da linhagem SH-SY5Y e *in vivo* (induzido por MPP⁺ e MPTP). Os resultados mostraram que a berberina e coptisina provavelmente foram os responsáveis pelas respostas mais acentuadas no efeito neuroprotetor, porém os outros componentes podem ter conferido ação anticolinérgica e neuroprotetora (FRIEDEMANN et al., 2015, 2016).

Segundo o artigo de revisão elaborado por Pérez-Hernández e colaboradores, no ano de 2016, indicam a capacidade de alcaloides isolados do rizoma da *Coptis chinensis* (Franch), como berberina, coptisina, epiberberina, groenlandicina, palmatina, jatrorrizina e magnoflorina de impedirem a formação dos agregados proteicos A β , através da inibição da via metabólica da formação dessas proteínas. Além do mais, os autores ainda destacam a participação da coptisina, groenlandicina e jatrorrizina em impedir a formação de EROs, configurando potencial antioxidante dessas substâncias.

Isorrincofilina é um alcaloide que pode ser extraído da espécie *Uncaria rhynchophylla*, da família *Rubiaceae*, no qual de acordo com Lu e colaboradores (2012), a substância promove a degradação da α -sinucleína em células neuronais, via autofagia. Foram testadas em diferentes

linhagens celulares, como N2a, PC12 e SH-SY5Y e constatou, por meio dos resultados, que causou a eliminação de monômeros da α -sinucleína do tipo selvagem, A53T e A30P, oligômeros de α -sinucleína e agregados de α -sinucleína/sinfilina-1 em células neuronais, por meio da via autofagia-lisossomal (LU et al., 2012; ZHOU; ZHOU, 2012; ZHANG et al., 2017). Em outro estudo, desenvolvido por Li e colaboradores (2017) foi demonstrado a capacidade da substância de atenuar a morte celular de células apoptóticas e o estresse oxidativo, induzido pelo MPP+, da linhagem PC12. Isto, por sua vez, indica capacidade neuroprotetora e preventiva, devido a capacidade da isorrincofilina de reduzir os agregados proteicos e o estresse oxidativo, por meio da ativação de diferentes vias (LU et al., 2012; ZHOU; ZHOU, 2012; ZHANG et al., 2017).

O alcaloide leonurina, encontrado na espécie *Leonurus heterophyllus*, já demonstrou potencial de inibir a produção de radicais livres e proteger a integridade mitocondrial que exerce importante papel na apoptose, além de regular a manutenção e sobrevivência celular (RAHMAN et al., 2022). No estudo desenvolvido por Shi et al. (2011), ao induzir a DP em ratos com a neurotoxina 6-OHDA, foi observado que um composto, sintetizado com base na estrutura da leonurina, o SCM198, reduziu a morte celular de células da linhagem, com possível efeito neuroprotetor, uma vez que manteve a função mitocondrial, que pôde ser verificado pelo aumento de indicadores de sobrevivência e da apoptose, como Bcl-2/Bax.

A ligustrazina é uma tetrametilpirazina encontrada na *Ligusticum striatum* e possui propriedades protetoras no cérebro, e auxilia na microcirculação e na inibição do processo de apoptose. Já foi constatado ação neuroprotetora em ratos induzidos por MPTP e provavelmente isso se deva ao mecanismo de regulação positiva dos níveis de superóxido dismutase (enzima antioxidante) e redução da degradação da glutathione (ZOU et al., 2018). Atividade antioxidante, por meio da modulação do estresse oxidativo e da produção de EROs, também é associada à substância (LU et al., 2014).

L-estefolidina, encontrada na espécie *Stephania japonica*, tem ação sob os receptores dopaminérgicos (YANG; JIN; WU, 2007). De acordo com o estudo desenvolvido por Mo e colaboradores (2010), o referido alcaloide reduziu a discinesia induzida pela levodopa em ratos expostos à neurotoxina 6-OHDA, como modelo da DP, em que agiu antagonizando os receptores D₂ e estimulou os receptores 5-HT_{1A}, melhorando os sintomas motores, sugerindo assim, que pode ser utilizado como adjuvante da levodopa.

A nicotina, encontrada em plantas da família *Solanaceae*, possui potencial capacidade de reduzir os níveis do íon de cálcio intracelular nos neurônios, após desregulação da via da apoptose e do NO-cGMP. A nicotina permite aumento na excitabilidade neuronal e como consequência, fatores neurotróficos são ativados, resultando em uma série de ativações neuroprotetoras. Não somente isto, está associada à inibição do processo de fibrilação da α -sinucleína e estabilização das formas oligoméricas geradas (ZOU et al., 2018).

São muitas as hipóteses que possam explicar o papel da nicotina. A primeira diz respeito à regulação da atividade estriatal e comportamentos mediados pelo sistema dopaminérgico, por meio da ativação dos receptores nicotínicos de acetilcolina (nAChRs) nos terminais dopaminérgicos, modulando e regulando a liberação da DA. Em estudos experimentais *in vivo*, ao induzir a DP com MPTP, após administração da nicotina, as respostas motoras melhoraram em roedores e macacos, constatando que a nicotina consegue reduzir as discinesias induzidas pela levodopa. Outra característica que pode conferir neuroproteção é que possivelmente aumenta os níveis das enzimas cerebrais do citocromo P450, favorecendo a inativação de neurotoxinas. Por isso, muito se discute quanto ao uso de cigarro e como isso, pode diminuir os riscos de desenvolvimento da DP, conforme muitos estudos sugerem, provavelmente pela ação da nicotina (MA et al., 2017).

5.1.2 Flavonoides

No estudo elaborado por Anusha, Sumati e Joseph (2017), foi avaliado o potencial de supressão da neuroinflamação e estresse oxidativo mediado por apoptose do flavonoide apigenina em ratos induzidos à DP com rotenona. Podendo ser encontrada em diversas frutas e vegetais, a apigenina mostrou, no estudo, regulação positiva na expressão do gene NF-kB e potencial preventivo da neuroinflamação, além de reduzir a liberação de citocinas pró-inflamatórias, como TFN- α , IL-6 e a enzima pró-inflamatória iNOS-1 e impedir a redução da expressão de fatores neurotróficos. Não somente isso, constatou-se, por meio do ensaio *immunoblot*, que a apigenina reduziu a formação dos agregados da proteína α -sinucleína e regulação na expressão da enzima TH. Em outro estudo, que empregou o MPTP para induzir o Parkinson, foi possível observar padrões semelhantes, em que o flavonoide apresentou potente resposta antioxidante, além de impedir a diminuição de TH e BDNF e o aumento de fatores pró-inflamatórios (NABAVI et al., 2018).

De forma geral, a baicaleína age, para a neuroproteção, por diversas vias e mecanismos de ação, como na inibição da produção de EROs, produção das proteínas $\alpha\beta$ e formação da nitrosina, além da regulação de alguns genes, como SNCA (SOWNDHARARAJAN et al., 2017). Baicaleína é um flavonoide monomérico, que pode ser encontrado na planta *Scutellaria baicalensis* da família *Laminaceae* e é conhecido por diversas propriedades farmacológicas (SINGH et al., 2020). Em um estudo desenvolvido por Mu e colaboradores (2009), constatou-se que a baicaleína apresentou efeitos neuroprotetores, após indução do parkinsonismo com 6-OHDA, em ensaios *in vitro* e *in vivo*, por meio de mecanismos anti-apoptóticos, pró-diferenciações e ação anti-inflamatória. Em outro estudo, realizado por Cheng et al. (2008), foi observado o mesmo efeito (neuroprotetor) contra a ação da neurotoxina MPTP em camundongos. Hu e colaboradores (2016) avaliaram o efeito protetor em relação à formação de agregados da α -sinucleína em modelo animal (camundongo) induzido por rotenona, constatando que ocorreu redução na produção e consequente formação da proteína (SOWNDHARARAJAN et al., 2017).

Segundo Goel e Chaudhary (2020), ao induzir a DP em ratos com reserpina, avaliou o efeito da daidzeína, constatando efeito protetor do flavonoide, por meio da avaliação histológica, em que percebeu melhora tecidual significativa na degeneração neuronal nos animais tratados com daidzeína. Assim como a daidzeína, outro flavonoide, genisteína, apresentou resposta neuroprotetora, ao ser avaliado células microgлияis de roedores estimuladas com lipopolisacarídeos, em que se observou, com a exposição da daidzeína e genisteína, a inibição da ativação microglial e como consequência, na liberação de fatores pró-inflamatórios (JUNG; KIM, 2018).

De forma a estabelecer melhor as propriedades da genisteína, no estudo de Wu et al. (2018), avaliou-se o efeito neuroprotetor em células SH-SY5Y mutantes que superexpressam o gene A53T, por meio da ativação do receptor de estrogênio e canais NFE₂L₂, além de reduzir os danos provocados pelo estresse oxidativo. Em outro trabalho, ao induzir Parkinson em animais com MPTP, a genisteína apresentou efeito neuroprotetor, provavelmente devido ao aumento da expressão do gene Bcl-2, que é um fator de sobrevivência capaz de bloquear a morte celular (LIU et al., 2008).

Hiperosídeo é um metabólito encontrado nas espécies *Hypericum monogynum* (Hyperaceae), *Crataegus pinnatifida* (Rosaceae) e *Polygonum aviculare* (Polygonaceae) (XU et al., 2022). No artigo publicado no ano de 2023, por Xu e colaboradores, ao induzirem

neurodegeneração dopaminérgica com MPTP e MPP⁺, tanto *in vitro*, em células SH-SY5Y e *in vivo* (ratos), respectivamente, ocorreu a redução da citotoxicidade *in vitro*, além de aliviar os sintomas motores dos animais. A exposição reduziu a concentração de óxido nítrico, H₂O₂ e malondialdeído (MDA) e elevou fatores neurotróficos, somente no ensaio *in vivo*. Já o estudo elaborado por Fan et al (2021) foi relatado que o hiperosídeo reduziu o dano neuronal induzido por rotenona por meio do mecanismo de supressão da autofagia, tanto por ensaio *in vitro* quanto *in vivo*.

Naringina é outro flavonoide, muito encontrado em frutas cítricas, que tem conhecidas propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes. Diversos estudos revelam que a substância fornece neuroproteção através da ativação de mecanismos antioxidantes e por diversas vias de anti-apoptótica e de fatores neurotróficos (SINGH et al., 2020). No estudo de Jung e Kim (2014), ao induzir a DP com a neurotoxina MPP⁺ em ratos, constatou-se que com a administração da naringina, os níveis da expressão da linhagem das células gliais derivadas do fator neurotrófico (GDNF) elevaram e a atividade do complexo I da atividade da rapamicina (mTORC1), que é um fator de sobrevivência, nos neurônios dopaminérgicos, protegendo assim, a DA nigroestriatal. Não somente isto, inibiu o fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α). Em outro trabalho, publicado dois anos depois, por Kim et al. (2016) foi possível confirmar atividade neuroprotetora, após administração da 6-OHDA em camundongos, em que foi observado a indução da ativação e expressão do mTORC1, mas não observou nenhuma restauração do sistema dopaminérgico após esse ter sido lesionado com a neurotoxina.

A puerarina, por sua vez, é um flavonoide glicosídeo, derivado da espécie *Pueraria lobata*, com conhecidas propriedades farmacológicas. Em relação à ação contra a DP, no estudo de Zhu et al. (2014), constatou-se que a substância atenuou a alteração comportamental, degeneração induzida por MPTP em camundongos, uma vez que aumentou a atividade da glutatona (GSH) e a expressão do fator neurotrófico via PI3K/Akt.

A quercetina é outro flavonoide que pode ser extraído de flores, folhas e frutas de várias espécies vegetais, com conhecidas propriedades anticarcinogênica, anti-inflamatória, antidiabética e antioxidante. Em relação à atividade antiparkinsoniana, o artigo de revisão Zhang e colaboradores (2017), mostrou alguns trabalhos em que elucidaram potencial neuroprotetor. O primeiro, realizado por Haleagrahara et al., no ano de 2011, ao induzir ratos com 6-OHDA com quercetina, observou que o flavonoide aumentou o nível de enzimas antioxidantes. Outro autor citado, Zhang et al., também no ano de 2011, demonstrou a

capacidade da quercetina inibir o sistema óxido nítrico sintase/óxido nítrico e a expressão de fatores pró-inflamatórios.

5.2 DERIVAÇÃO DO FARMACÓFORO

Para a formação do farmacóforo, as moléculas foram otimizadas e suas cargas parciais corrigidas. Esses procedimentos são importantes para evitar possíveis erros em cálculos preditivos posteriores. Como cada átomo de uma molécula possui uma carga parcial, seja negativa ou positiva, é criada uma “nuvem” eletrônica ao seu redor, que pode influenciar na distribuição dessas cargas e interferir assim, nos resultados (CARVALHO et al., 2003).

Quanto ao conceito de farmacóforo, basicamente este é definido como um arranjo espacial de um conjunto de moléculas que permite identificar quais são as regiões necessárias para um ligante interagir com o alvo e provocar uma resposta biológica, servindo como um potente modelo para estudos de planejamento de fármacos. O conceito foi introduzido por Erlich em 1909 no qual definiu o farmacóforo como sendo “uma estrutura molecular que carrega (*phoros*) as características essenciais responsáveis pela atividade biológica de uma droga (*pharmacon*)” (YANG, 2010). Após alguns anos, em 1998, para ampliar melhor a definição, a IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*), definiu o farmacóforo como sendo “conjunto de características estéricas e eletrônicas necessárias para garantir as interações supramoleculares ideais como uma estrutura-alvo específica para desencadear (ou bloquear) sua resposta biológica” (LEACH et al., 2010; YANG, 2010).

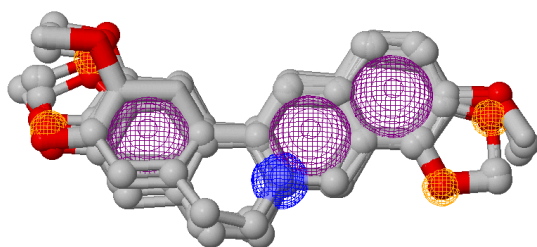
Em decorrência da diversidade e complexidade de diferentes estruturas moleculares, programas e algoritmos foram desenvolvidos para elucidar um modelo farmacofórico com rapidez (LEACH et al., 2010). O *PharmaGist* é um servidor online e gratuito, que possibilita a geração de farmacóforos em 3D, por meio do alinhamento de diferentes moléculas e fornece a pontuação (*scores*) de até 32 moléculas, em poucos minutos (SCHNEIDMAN-DUHOVNY et al., 2008).

A formação do farmacóforo engloba o conjunto de grupos funcionalmente importantes para a realização de interações intermoleculares e que define com isso, as características químicas de um ligante para ser ativo, que são geralmente sinalizados pela presença de grupos aromáticos, doadores de ligações de hidrogênio, aceptores de hidrogênio, e íons carregados

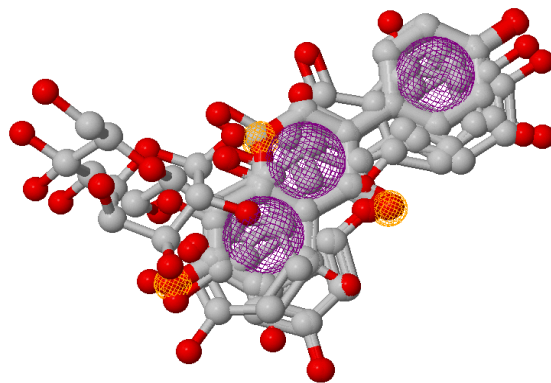
positivamente ou negativamente, regiões estas determinantes (LEACH et al., 2010; GIORDANO et al., 2022).

Figura 8 – Grupamentos farmacofóricos dos alcaloides (A) e flavonoides (B)

A



B



Fonte: PharmaGist

Na figura 8, é possível observar o modelo farmacofórico gerado pelo servidor em modelo 3D, dos grupos dos alcaloides (A) e flavonoides (B). As regiões sinalizadas com a cor roxa representam a regiões aromáticas, a de cor azul a presença de um íon positivo e em laranja representam os aceitadores de hidrogênio, confirmando com as estruturas bases dos alcaloides e flavonoides.

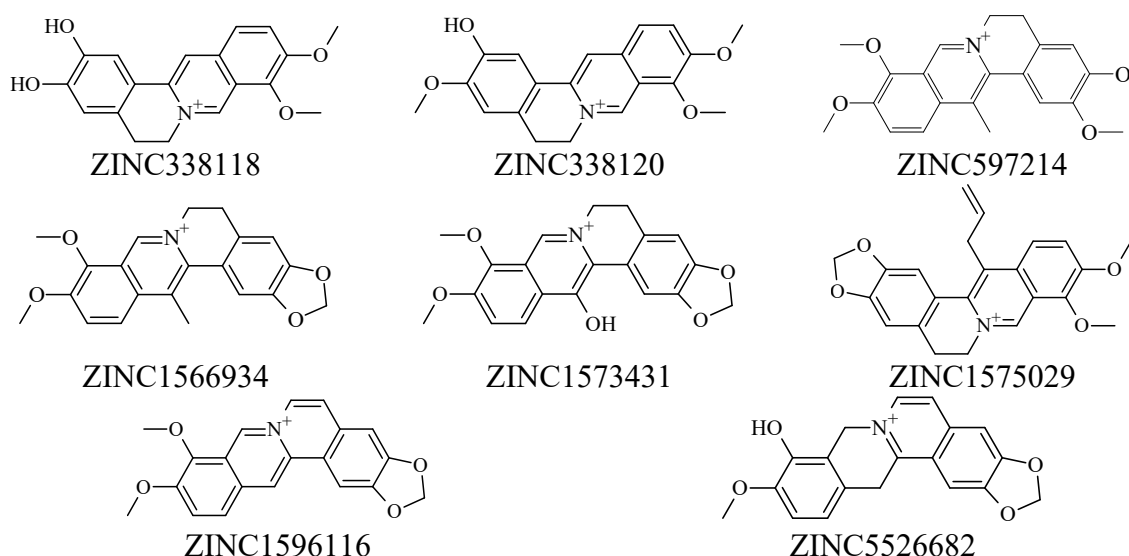
5.3 TRIAGEM VIRTUAL BASEADA EM FARMACÓFORO

Como existem um grande número de moléculas disponíveis nos mais variados bancos de dados, a triagem virtual é uma etapa importante para o estudo e desenvolvimento de fármacos, uma vez que possibilita refinar a busca com maior rapidez (BROGI, 2019). A triagem virtual pode ser dividida em duas vertentes: triagem baseada na estrutura ou baseada em ligantes. A primeira utiliza das informações estruturais da proteína-alvo para identificar moléculas que possam interagir e ativar ou bloquear a atividade. Já a triagem baseada em ligantes leva em consideração as características e propriedades dos ligantes e de acordo com sua estrutura, determinar potencial relação estrutura-atividade (REA) (QUEVEDO, 2016; GIORDANO et al., 2022).

A partir da geração do farmacóforo, obtido através do conjunto de moléculas, que é conformacionalmente acessível a todos os ligantes (KOES; CAMACHO, 2012) pode-se então triar outras estruturas com características semelhantes. O servidor *ZINCPharmer* permite a busca de mais de 176 milhões de conformações, em poucos minutos, sendo uma ferramenta de fácil uso e com rapidez na busca, em que através da aplicação de filtros permite refinar e reduzir ainda mais a quantidade de moléculas geradas (KOES; CAMACHO, 2012).

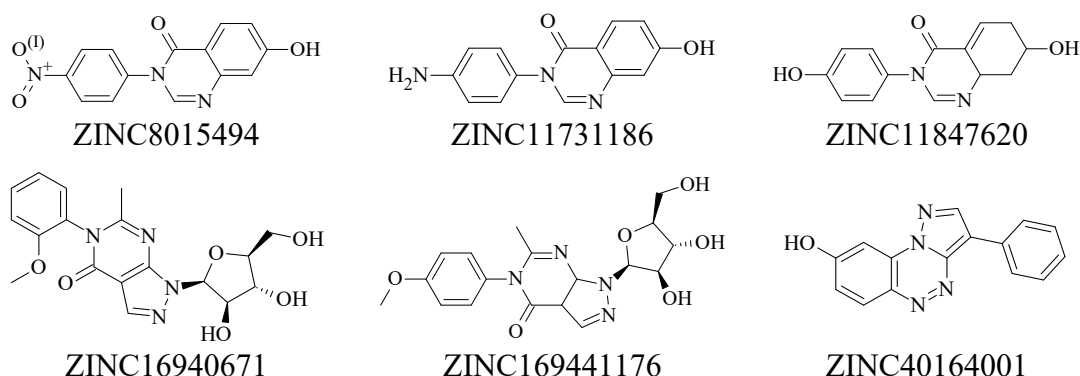
No grupo dos alcaloides, após a aplicação dos filtros, obteve-se o total de oito moléculas (Figura 9), enquanto que dos flavonoides, originaram ao todo, 16 moléculas (Figura 10).

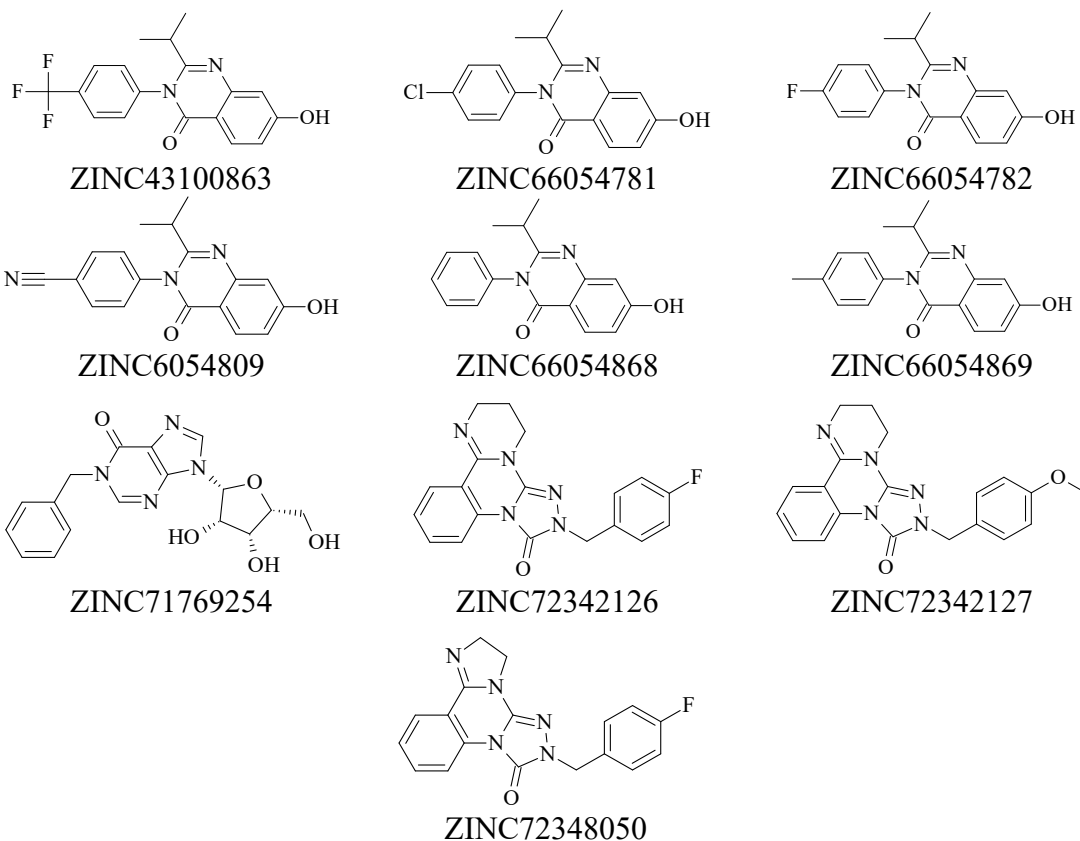
Figura 9 – Representação 2D das moléculas triadas do grupo dos alcaloides, a partir do servidor ZINCPharmer



Fonte: Autoria própria

Figura 10 – Representação 2D das moléculas triadas do grupo dos flavonoides, a partir do servidor ZINCPharmer





Fonte: Autoria própria

5.4 PREDIÇÃO FARMACOCINÉTICA

Para o desenvolvimento de fármacos, a análise quanto às propriedades farmacocinéticas é fundamental, uma vez que se pretende conhecer o percurso que um fármaco faz para alcançar o sítio ativo e produzir uma resposta. Preciso e de fácil uso, o *software QikProp* permite prever, a partir da estrutura química, em valores quantitativos, características relacionadas às etapas de absorção, distribuição, biotransformação e excreção de diferentes moléculas (SCHRÖDINGER, 2021).

Como para esse estudo, pretendeu-se avaliar candidatos com ação a nível central, foram considerados os seguintes descritores: *Stars*, Absorção Oral Humana (AOH), Porcentagem de Absorção Oral Humana (%AOH), Permeabilidade em células Caco-2 (células de carcinoma de cólon humano), Permeabilidade em células MDCK (*Madin-Darby canine kidney*), logBB, Atividade no Sistema Nervoso Central (SNC_A) e logHERG. De acordo com o próprio programa, os valores de referência para cada parâmetro são:

Quadro 5 – Parâmetros e valores de referência para a predição farmacocinética, de acordo com o software *QikProp*

Descritor	Valores de referência
#stars	0 – 5
Absorção oral humana	1: baixa 2: média 3: alta
% Absorção oral humana	< 25: baixa > 80: alta
Permeabilidade em células Caco-2	< 25: baixa > 500: alta
Permeabilidade em células MDCK	< 25: baixa > 500: alta
logBB	-3 a 1,2
logHERG	< - 5: preocupante
SNC	- 2: inativo + 2: ativo

Fonte: Manual *QikProp* 4.4

De forma a comparar os resultados obtidos no *QikProp*, com os grupos de estudo, foi realizada a predição farmacocinética da selegilina como molécula de referência, uma vez que é um inibidor seletivo e irreversível da MAO-B, utilizado na terapia farmacológica da DP, principalmente para a melhora na resposta motora. Mas apesar das vantagens terapêuticas, o seu uso está associado a diversos efeitos colaterais e tóxicos, o que dificulta na adesão à farmacoterapia. Por isso a necessidade de estudos de novas propostas que sejam eficazes e seguras.

Para melhor compreensão, é necessário compreender cada descritor e seu significado para melhor estabelecer as propriedades almejadas em um candidato a fármaco. O parâmetro *stars* indica o número de descritores computados para uma molécula no *QikProp* que estão fora da faixa dos valores de 95% (ANGELINO et al., 2019; SCHRÖDINGER, 2021). Isto implica que quanto mais distante de 0, menos confiável é o resultado, indicando que ao comparar com outras moléculas disponíveis no acervo, o programa não conseguiu mensurar com tanta exatidão os parâmetros, pois há pouca similaridade. Por isso, o programa estabelece um intervalo de confiança de 95%, caso ultrapasse, deve-se entender que o cálculo não foi validado com precisão (SCHRÖDINGER, 2021).

Os parâmetros de AOH e %AOH são importantes para definição do comportamento do fármaco pelo organismo e de como este consegue atingir a corrente sanguínea para ser distribuído em concentrações ideais, que influencia, com isso, na sua biodisponibilidade. A via oral é a rota de administração mais utilizada devido às suas inúmeras vantagens, como não ser invasiva, ter maior adesão pelos pacientes e ser mais conveniente, quando comparada à outras vias. Aproximadamente cerca de 60% de produtos medicamentosos, de moléculas de baixo peso molecular, disponíveis são uso oral (VOLPE, 2011; ALQAHTANI et al., 2021). A depender das características físico-químicas, de lipofilicidade e solubilidade, entre outras, um fármaco consegue atravessar as barreiras biológicas com maior facilidade e atingir a corrente sanguínea com mais rapidez. Então, compreender se consegue ser absorvido e quanto, em termos de porcentagem, é essencial para o estudo de um candidato à fármaco.

A absorção intestinal é dos um dos pontos chaves na pesquisa para estabelecer se uma droga tem o potencial de ser se tornar um produto de administração oral (VOLPE, 2008). Sabe-se que a barreira intestinal é formada por um conjunto de mecanismos de transportes, como difusão passiva e participação de diferentes carreadores, tanto na absorção quanto no efluxo de substâncias. Dito isto, ensaios que avaliam a permeabilidade é essencial, sendo uma alternativa mais econômica quando comparados aos estudos *in vivo* (GHANNAY; KADRI; AOUBADI, 2020).

E alguns dos modelos usualmente empregados são os que avaliam a permeabilidade nas células Caco-2 e MDCK. Popularizada a partir dos estudos desenvolvido por Hidalgo e colaboradores, em 1989, as células Caco-2 são derivadas da linhagem do adenocarcinoma do cólon humano, em que se diferenciam espontaneamente em enterócitos em sob condições normais e formam camadas de células epiteliais colunares, junções intercelulares apertadas e microvilosidades apicais, ou seja, são muito semelhantes estruturalmente com o epitélio humano, podendo assim ser usado como modelo (VOLPE, 2008, 2011; DING et al., 2021). O *QikProp* permite prever a capacidade de penetração sangue-intestino, considerando o transporte não ativo através dessas células (SCHRÖDINGER, 2021).

Outro modelo bastante empregado é quanto ao uso das células MDCK, que são isoladas do tecido renal distal canino. Assim como as células Caco-2, se diferenciam em epitélio colunar com bordas em escova, com a formação de junções unidas, quando cultivadas *in vitro*. No entanto, o tempo de cultivo e crescimento é mais rápido, além de possuir valores mais baixos de TEER (indicador da integridade das barreiras celulares) (VOLPE, 2008; SHULER;

HICKMAN, 2016). Não somente isto, essas células são utilizadas para compreender a fisiologia tubular distal e serve como um bom imitador da barreira hematoencefálica (DE SOUZA; FREITAS; STORPIRTIS, 2007; VOLPE, 2008; SCHRÖDINGER, 2021).

Para o planejamento de uma droga que tenha ação no sistema nervoso central, é essencial avaliar dois parâmetros: capacidade de penetração pela BHE, por meio do valor de $\log BB$, e se consegue ativar ou bloquear alguma resposta no sistema nervoso central (SNC_A). O endotélio capilar cerebral é protegido por células unidas fortemente, por meio da interação de várias proteínas transmembranares, que permite o bloqueio do acesso de substâncias ao fluído cerebral. Nesse sentido, a BHE serve como uma camada protetora e impede que moléculas mais polares e de alto peso molecular penetrem (MOHAMMED et al., 2005). De acordo com o *software*, valores entre -3 e 1.2 indicam boa permeabilidade pela barreira (SCHRÖDINGER, 2021).

No entanto, mesmo que uma molécula consiga alcançar a região, não significa necessariamente que causará alguma ação, uma vez que pode não ter afinidade com nenhum alvo ou até mesmo ser um substrato para as enzimas cerebrais, como a glicoproteína-P, por exemplo (MOHAMMED et al., 2005).

Por fim, o último parâmetro analisado foi quanto ao potencial inibitório sob o canal $HERG/K^+$. Esse critério é importante para avaliar se determinada substância pode alterar ou causar perturbações no ritmo normal do coração, podendo causar insuficiência cardíaca e até à morte. Isto se deve, por sua vez, ao fato de o bloqueio no canal causar distúrbio na repolarização cardíaca (aumento do intervalo QT) (JAMIESON et al., 2006; SANGUINETTI; TRISTANI-FIROUZI, 2006; RASCHI et al., 2008).

5.4.1 Grupo dos alcaloides: produtos naturais e moléculas triadas

Os resultados da predição do grupo dos alcaloides (produtos naturais), demonstraram que a berberina, coptisina, groenlandicina, ligustrazina e nicotina apresentaram os melhores resultados quando comparadas às outras estruturas (Tabela 1). A palmatina apresentou comportamento semelhante à selegilina, no qual só reprovou para o parâmetro do $\log HERG/K^+$. A molécula que teve pior desempenho, para esta predição, foi a leorunina, que reprovou na permeabilidade nas células MDCK, apresentou valor negativo na atividade a nível central e que possui capacidade bloquear os canais $HERG/K^+$. Em relação à confiabilidade dos resultados,

de acordo com o “stars”, as variações foram menores que 95%, ou seja, dentro dos limites aceitáveis.

Tabela 1 – Propriedades farmacocinéticas das moléculas pertencentes ao grupo dos alcaloides, calculadas no *software QikProp*

Moléculas	Similaridade	Absorção		Distribuição				
	Stars	AOH	%AOH	pCaco-2	pMDCK	SNC _A	logBB	logHERG
Selegilina	2	3	100	2.234,33	1.305,02	2	0,621	-5,35
Berberina	2	3	100	6604,37	3806,19	1	0,274	-4,828
Coptisina	1	3	100	6904,48	3993,48	1	0,43	-4,117
Epiberberina	1	3	100	6906,29	3994,61	1	0,292	-4,867
Groelandicina	1	3	100	2062,54	1081,88	0	-0,197	-4,703
Isorincofilina	0	3	85,02	308,426	153,484	1	-0,136	-5,183
Jatrorrizina	1	3	100	3086,03	1672,37	0	-0,201	-5,328
Leorunina	0	3	63,649	53,806	21,015	-2	-2,558	-5,127
Ligustrazina	4	3	100	5443,78	3082,54	1	0,34	-3,187
L-estefolidina	0	3	85,17	297,686	147,715	1	-0,174	-5,42
Nicotina	0	3	89,322	1268,63	707,819	2	0,72	-4,727
Palmatina	1	3	100	6602,97	3805,32	1	0,134	-5,467

Resultado em verde: bom; Amarelo: intermediário; Vermelho: ruim.

Fonte: Autoria própria

Após a triagem, com a obtenção de oito moléculas, observou-se que para os parâmetros farmacocinéticos, as moléculas ZINC ID: 597214, 1566934 e 5526682 obtiveram os melhores resultados (Tabela 2), uma vez que todos estão dentro dos valores de referência aceitáveis, sendo importante destacar que, diferentemente da selegilina, nenhuma apresentou potencial de inibição sobre os canais HERG/K⁺, indicando possuírem menores riscos cardíacos.

Quando realizada uma análise estrutural das moléculas, pode-se depreender que a presença do grupo hidroxila influencia na polaridade e diminui com isso, alguns valores relacionados à absorção e distribuição, principalmente no que cerne à permeabilidade nas células Caco-2 e MDCK, além de interferir também na atividade no SNC.

Tabela 2 - Propriedades farmacocinéticas das moléculas triadas a partir do grupo dos alcaloides, calculadas no *software QikProp*

Moléculas	Similaridade	Absorção		Distribuição				
	Stars	AOH	%AOH	pCaco-2 (nm/sec)	pMDCK (nm/sec)	SNC _A	logBB	logHERG
Selegilina	2	3	100	2,234,33	1,305,02	2	0,621	-5,35
ZINC00338118	1	3	100	791,10	384,01	-1	-0,787	-5,115
ZINC00338120	1	3	100	3227,53	1755,41	0	-0,176	-5,194
ZINC00597214	2	3	100	9831,48	5851,32	1	0,319	-4,799
ZINC01566934	1	3	100	7192,06	4173,57	1	0,312	-4,443
ZINC01573431	2	3	100	3822,64	2048,20	0	-0,019	-4,547
ZINC01575029	1	3	100	6958,98	4027,56	1	0,163	-5,400
ZINC01596116	1	3	100	6712,05	3873,31	1	0,281	-5,165
ZINC05526682	2	3	100	6875,59	3975,20	1	0,291	-4,846

Resultado em verde: bom; Amarelo: intermediário; Vermelho: ruim.

Fonte: Autoria própria

5.4.2 Grupo dos flavonoides: produtos naturais e moléculas triadas

Na avaliação do grupo dos flavonoides (produtos naturais), ao comparar com a selegilina (Tabela 3), pode-se observar que de uma forma geral, apresentaram resultados menos favoráveis em relação aos alcaloides, uma vez que todas apresentaram ao menos três parâmetros fora dos valores ideais de referência.

Tabela 3 - Propriedades farmacocinéticas das moléculas pertencentes ao grupo dos flavonoides, calculadas no *software QikProp*

Moléculas	Similaridade	Absorção		Distribuição				
	Stars	AOH	%AOH	pCaco-2	pMDCK	SNC _A	logBB	logHERG
Selegilina	2	3	100	2,234,33	1,305,02	2	0,621	-5,35
Apigenina	0	3	73,47	124,619	52,094	-2	-1,402	-5,063
Baicaleína	0	3	77,352	176,965	76,104	-2	-1,253	-5,126
Daidzeína	0	3	83,547	422,274	194,833	-1	-0,836	-4,802
Genisteína	0	3	76,738	187,317	80,927	-2	-1,219	-4,711
Hiperosídeo	4	1	2,884	2,859	0,881	-2	-4,393	-6,74
Naringina	7	1	0	2,142	0,664	-2	-4,491	-6,066
Puerarina	1	2	33,432	20,001	7,211	-2	-2,707	-5,62
Quercetina	0	2	53,369	23,564	8,609	-2	-2,202	-4,772

Resultado em verde: bom; Amarelo: intermediário; Vermelho: ruim.

Fonte: Autoria própria

Alguns pontos devem ser destacados, o primeiro é em relação ao *#stars*, em que a molécula naringina ultrapassou o valor de referência, além de não ser aceita em todos os outros parâmetros. Assim como a naringina, outra molécula que reprovou em quase todos os campos, com exceção do valor de *stars*, foi o hiperosídeo. Isso pode ser devido a presença de grupos polifenólicos heterocíclicos e glicosídios (naringina), que aumentam a polaridade, interferindo com isso, os parâmetros de absorção, permeabilidade em células e na BHE, além de diminuir o potencial atividade no SNC. Quanto a este último parâmetro (SNC_A), é importante ressaltar que nenhuma molécula do grupo dos flavonoides apresentou resultado favorável, apesar de algumas (apigenina, baicaleína, daidzeína, genisteína, puerarina e quercetina) possuírem a capacidade de atravessar a BHE com maior facilidade.

Após a aplicação da triagem e obtenção de outras estruturas, observou-se que ocorreu melhorias nos resultados, demonstrando que o *screening* virtual foi mais favorável para o grupo dos flavonoides (Tabela 4), com destaque à molécula ZINC72342126, que apresentou comportamento semelhante à selegilina, em que só obteve resultado desfavorável no valor do logHERG.

Tabela 4 - Propriedades farmacocinéticas das moléculas triadas a partir do grupo dos flavonoides, calculadas no *software QikProp*

Moléculas	Similaridade	Absorção		Distribuição				
	Stars	AOH	%AOH	pCaco-2	pMDCK	SNC	logBB	logHERG
Selegilina	2	3	100	2234,33	1305,02	2	0,621	-5,35
ZINC08015494	1	3	68,079	108,228	44,729	-2	-1,383	-4,994
ZINC11731186	0	3	74,550	248,580	109,880	-1	-0,998	-4,799
ZINC11847620	0	3	76,610	286,124	127,124	-1	-0,942	-4,812
ZINC16940671	0	3	67,781	174,286	74,859	-2	-1,552	-5,282
ZINC16941176	0	3	66,896	173,117	74,317	-2	-1,439	-4,692
ZINC40164001	0	3	92,435	748,067	361,489	0	-0,525	-5,262
ZINC43100863	0	3	100	1336,07	3110,85	0	-0,099	-4,981
ZINC66054781	0	3	100	1361,00	1705,72	0	-0,193	-4,878
ZINC66054782	0	3	100	1368,57	1242,57	0	-0,299	-4,695
ZINC66054809	0	3	81,935	285,626	127,683	-2	-1,08	-4,982
ZINC66054868	0	3	100	1358,29	688,808	0	-0,348	-4,915
ZINC66054869	0	3	100	1338,3	677,858	0	-0,348	-4,582
ZINC71769254	0	3	63,996	140,749	59,419	-2	-1,664	-5,44
ZINC72342126	0	3	100	3331,58	3260,26	1	0,074	-5,791
ZINC72342127	0	3	100	3428,01	1873,56	0	-0,095	-5,803
ZINC72348050	0	3	100	2539,5	2427,3	0	-0,024	-5,498

Resultado em verde: bom; Amarelo: intermediário; Vermelho: ruim.

Fonte: Autoria própria

Além disso, destaca-se que todas apresentaram valores *#stars* dentro do limite de aceitação, com a maioria igual a 0 e apresentam facilidade em passar pela BHE. De um total de dezesseis moléculas, dez não possuem potencial de inibir o canal HERG/K⁺, tendo uma melhora em relação a esse parâmetro quando comparado à selegilina. Uma outra questão que deve ser pontuada é quanto a presença do nitrogênio heterocíclico em todas as estruturas obtidas a partir da triagem virtual, que de certa forma influenciou na predição farmacocinética, em que os resultados foram mais favoráveis.

Curiosamente, todas as moléculas triadas do grupo dos flavonoides apresentam em sua estrutura um nitrogênio incorporado a um anel heterocíclico e assim como os alcaloides obtiveram respostas, para a análise farmacocinética, melhores quando comparadas aos flavonoides (produtos naturais), podendo sugerir com isso, que a presença do nitrogênio pode contribuir para a melhora dos parâmetros ADME.

5.5 PREDIÇÃO TOXICOLÓGICA

Conhecer não somente a farmacocinética, mas também os possíveis efeitos tóxicos de uma molécula é uma etapa imprescindível. Com isso, a busca por metodologias que demandam menos tempo e que sejam mais econômicas, além de permitirem a otimização de recursos e diminuição de testes em animais vêm sendo continuamente realizada. A toxicologia computacional é uma das vertentes, por meio da aplicação de algoritmos e programas, que permite correlacionar a estrutura com possíveis efeitos tóxicos quando comparados com bancos de dados (GREENE et al., 1999).

De maneira simplificada, o programa DEREK (*Deductive Estimation of Risk from Existing Knowledge*), desenvolvido por Schering Agrochemitures e comercializado pela Lhasa Limited, prevê a toxicidade de diferentes moléculas através da correlação estrutural com outros compostos já testados experimentalmente (GREENE et al., 1999). O programa aplica relações estrutura-atividade (REA) e fornece informações qualitativas da ação tóxica de diferentes compostos (RIDINGS et al., 1996; GREENE, 2002), por meio da sinalização de alertas e indica qual grupo da molécula é responsável por conferir tal sinalização, identificando qual efeito tóxico que pode ser provocado no organismo. A cada sinal, apresenta a probabilidade de o resultado ser verdadeiro (Quadro 6).

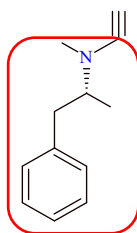
Quadro 6– Probabilidade de a proposição determinada pelo programa *DEREK* ser verdadeira

Descritor	Significado
<i>Certain</i>	Provado como verdadeiro
<i>Impossible</i>	Provado como falso
<i>Probable</i>	Há pelo menos um forte argumento de a proposição ser verdadeira e não há argumentos contra ela
<i>Plausible</i>	O peso da evidência apoia a proposição
<i>Equivocal</i>	Há um peso de evidência a favor e contra a uma proposição
<i>Open</i>	Não há evidência a favor e contra a uma proposição
<i>Contradicted</i>	Há prova de que a proposição é tanto verdadeira como falsa

Fonte: (JUDSON; STALFORD; VESSEY, 2013)

A fim de comparar com os grupos de interesse, foi realizada a predição da selegilina, que é a molécula de referência, no qual apresentou um alerta para a condição de distúrbio renal em mamíferos, em decorrência da presença da estrutura benzfetamina (Figura 11), sendo esse alerta do tipo *equivocal*.

Figura 11– Grupo responsável pelo sinal de alerta da molécula selegilina



Apesar de o programa ter sinalizado apenas um alerta, é de conhecimento que a selegilina pode causar diversos efeitos adversos como crise hipertensiva, sendo esta associada aos níveis tóxicos dos metabólitos adrenérgicos do fármaco, e pode causar também a elevação acentuada da pressão arterial, caso o indivíduo faça o consumo junto com alimentos, suplementos e bebidas ricos em tiramina. Episódios repentinos do sono, hipotensão ortostática, arritmias,

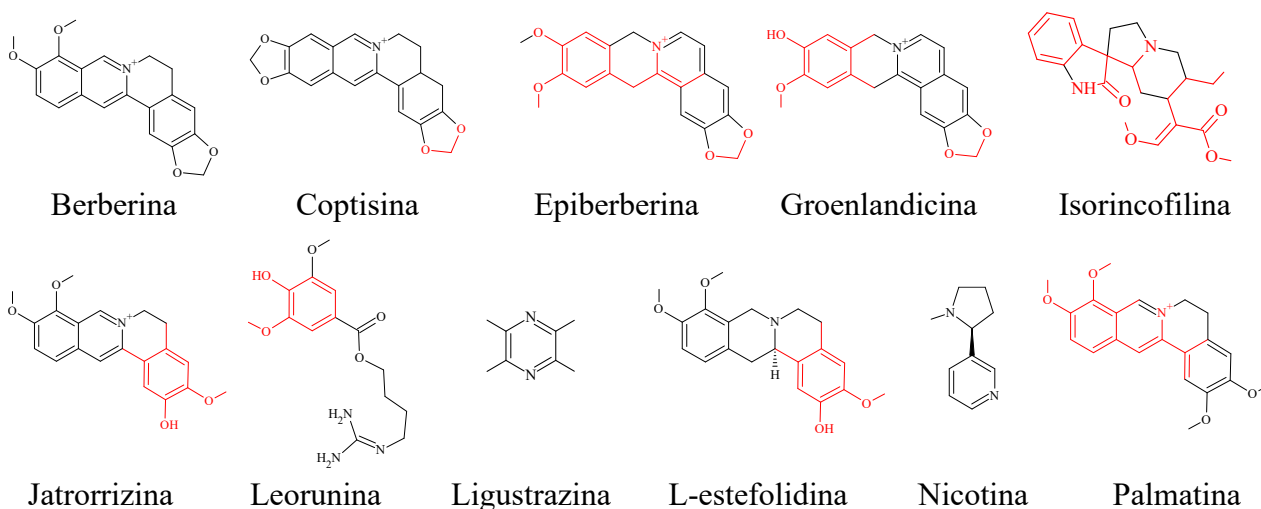
alterações do estado mental, alucinações podem ocorrer em indivíduos que fazem uso do medicamento (MOORE; SAADABADI, 2023).

5.5.1 Grupo dos alcaloides: produtos naturais e moléculas triadas

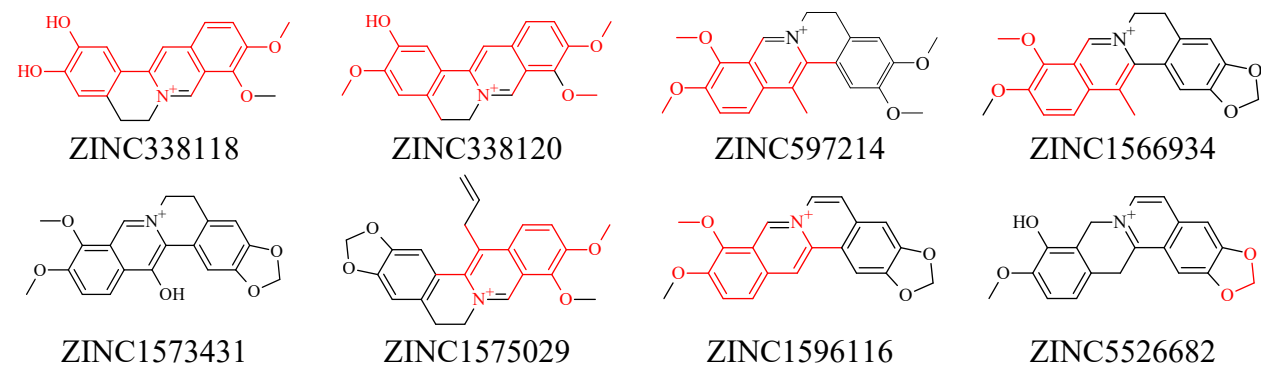
Dos 11 alcaloides estudados, somente três não apresentaram alerta, que foram a berberina, ligustrazina e nicotina (Tabela 5). Os alcaloides que tiveram um único alerta foram jatrorrizina, leorunina e palmatina, para a condição “sensibilização da pele”, sendo todas as moléculas com a probabilidade de a predição ser correta (*plausible*) (Figura 12). As moléculas que deram um maior número de alertas foram: isorincofilina (3), coptisina (4), epiberberina (5), groenlandicina (5), no qual a grande maioria atribuída ao grupo alquil aldeído (Figura 12).

Figura 12 – Grupos toxicofóricos, representados em vermelho, dos alcaloides e moléculas triadas a partir dos alcaloides

Produtos naturais



Moléculas triadas



Fonte: Autoria própria

Tabela 5 – Predição das propriedades toxicológicas das moléculas pertencentes ao grupo dos alcaloides, pelo programa *DEREK*

Moléculas	Total de alertas	Condição	Alerta
Selegilina	1	Distúrbios renais em mamíferos (<i>equivocal</i>)	Tipo benzfetamina
Berberina	0	-	-
Coptisina	4	Sensibilização da pele (<i>plausible</i>) Dano ao cromossomo <i>in vitro</i> (<i>plausible</i>) Mutagenicidade <i>in vitro</i> (<i>plausible</i>) Genotoxicidade não específica (<i>plausible</i>)	Precursor de alquil aldeído Alquil aldeído ou precursor Alquil aldeído ou precursor Alquil aldeído ou precursor
Epiberberina	5	Sensibilização da pele (<i>plausible</i>) Dano ao cromossomo <i>in vitro</i> (<i>plausible</i>) Mutagenicidade <i>in vitro</i> (<i>plausible</i>) Genotoxicidade não específica (<i>plausible</i>)	Precursor de alquil aldeído Anisol vinílico ou alílico Alquil aldeído ou precursor Alquil aldeído ou precursor Alquil aldeído ou precursor
Groelandicina	5	Sensibilização da pele (<i>plausible</i>) Dano ao cromossomo <i>in vitro</i> (<i>plausible</i>) Mutagenicidade <i>in vitro</i> (<i>plausible</i>) Genotoxicidade não específica (<i>plausible</i>)	Precursor de alquil aldeído Derivado de 1,2-Dihidroxibenzeno Alquil aldeído ou precursor Alquil aldeído ou precursor Alquil aldeído ou precursor
Isorincofilina	3	Sensibilização da pele (<i>plausible</i>) Inibição canal HERG (<i>plausible</i>)	Éter enol Éster α,β -insaturado ou precursor Farmacóforo HERG I
Jatrorrizina	1	Sensibilização da pele (<i>plausible</i>)	Derivado de 1,2-Dihidroxibenzeno
Leorunina	1	Sensibilização da pele (<i>plausible</i>)	Derivado de 1,2-Dihidroxibenzeno
Ligustrazina	0	-	-
L-estefolidina	1	Sensibilização da pele (<i>plausible</i>)	Derivado de 1,2-Dihidroxibenzeno
Nicotina	0	-	-
Palmatina	1	Sensibilização da pele (<i>plausible</i>)	Anisol vinílico ou alílico

Fonte: Autoria própria

Das moléculas triadas (Figura 12), de um total de oito, apenas uma apresentou um número maior de alertas, que foi a ZINC05526682 (5), sendo atribuídos aos grupos alquil aldeído e anisol vinílico ou alílico. É importante citar também a molécula ZINC00338118, que apresentou três alertas, um para dano ao cromossomo *in vitro* e dois para sensibilização da pele. A molécula ZINC01573431 não sinalizou nenhum alerta, e o restante apresentaram um alerta para sensibilização da pele atribuído ao anisol vinílico ou alílico.

Tabela 6 – Predição das propriedades toxicológicas das moléculas triadas a partir do grupo dos alcaloides, pelo programa *DEREK*

Moléculas	Total de alertas	Condição	Alerta
Selegilina	1	Distúrbios renais em mamíferos (<i>equivocal</i>)	Tipo benzfetamina
ZINC00338118	3	Dano ao cromossomo <i>in vitro</i> (<i>plausible</i>)	Catecol
		Sensibilização da pele (<i>plausible</i>)	1,2-Dihidroxibenzeno ou derivado
ZINC00338120	2	Sensibilização da pele (<i>plausible</i>)	Anisol vinílico ou alílico
			1,2-Dihidroxibenzeno ou derivado
ZINC00597214	1	Sensibilização da pele (<i>plausible</i>)	Anisol vinílico ou alílico
ZINC01566934	1	Sensibilização da pele (<i>plausible</i>)	Anisol vinílico ou alílico
ZINC01573431	0	-	-
ZINC01575029	1	Sensibilização da pele (<i>plausible</i>)	Anisol vinílico ou alílico
ZINC01596116	1	Sensibilização da pele (<i>plausible</i>)	Anisol vinílico ou alílico
ZINC05526682	5	Dano ao cromossomo <i>in vitro</i> (<i>plausible</i>)	Alquil aldeído ou precursor
		Mutagenicidade <i>in vitro</i> (<i>plausible</i>)	Alquil aldeído ou precursor
		Genotoxicidade não específica <i>in vitro</i> (<i>plausible</i>)	Alquil aldeído ou precursor
		Sensibilização da pele (<i>plausible</i>)	Anisol vinílico ou alílico

Fonte: Autoria própria

Devido a diversidade de alcaloides, muitos estudos são desenvolvidos para delimitar o potencial tóxico de variadas estruturas do grupo. O programa DEREK fornece os dados referentes à cada análise, sinalizando qual grupo toxicofórico é responsável por determinado alerta, além de apresentar fundamentos teóricos que embasam os resultados.

As moléculas coptsina, epiberberina, groenlandicina e ZINC05526682 apresentaram alertas em decorrência da detecção nas suas estruturas do grupo alquil aldeído ou precursor. De forma geral, os aldeídos são compostos carbonílicos eletrofílicos, que contem ao menos um átomo de hidrogênio substituinte no carbono carbonílico (LOPACHIN; GAVIN, 2014). O mecanismo envolvido em relação à toxicidade desses grupos ainda permanece desconhecido, mas sugere-se que precursores desses grupos possam causar danos celulares, como dano ao cromossomo, mutagenicidade e genotoxicidade não específica, por diferentes vias. Em relação à sensibilização da pele que pode ser causada por esses grupos, provavelmente seja em decorrência do prehapteno produzir um eletrófilo com potencial formação de base de Schiff (APTULA; ROBERTS, 2006). É importante ressaltar que, considerando um fármaco de

administração oral com ação no SNC, a condição “sensibilização da pele” foi relevante para este estudo em razão dos riscos que podem trazer durante o processo de síntese de uma substância.

O grupo anisol vinílico ou alílico foi identificado nas moléculas epiberberina, palmatina, ZINCC00338120, ZINC01566934, ZINC01575029, ZINC01596116 e ZINC05526682. E como pode ser observado, esse alerta foi mais prevalente no grupo das moléculas triadas. Em um ensaio do linfonodo local murino (LLNA), elaborado por Gerberick et al. (2005) foi observado que a exposição a substâncias derivadas do anisol possuindo um grupo vinílico ou alílico, como 1-metoxi-4-propenilbenzeno, 1-(4-metoxifenil)-1-penten-3-ona e 4-anianisol, causaram sensibilização na pele dos animais, possivelmente pelo mecanismo da produção de radicais livres por pre/prohapteno.

As moléculas groenlandicina, jatrorrizina, leorunina, l-estefolidina, ZINC00338118, ZINC00338120, por sua vez, apresentaram alerta para a condição sensibilização na pele, devido a presença do grupo catecol ou 1,2-dihidroxibenzeno. O grupo catecol, quando em contato com a pele ou mucosa, por ser altamente irritante, pode causar dermatite eczematosa. Apresenta toxicidade sistêmica semelhante ao grupo fenol, porém com maiores efeitos nocivos, uma vez que é mais propenso de causar convulsões e hipertensão (NCBI, 2023).

A molécula isorincofilina apresentou três alertas, sendo dois para sensibilização da pele, que foram atribuídos aos grupos éter enol e éster α,β -insaturado, e um alerta para inibição do canal HERG, pela identificação do farmacóforo tipo 1. Em relação ao grupo éter, de acordo com o programa DEREK, o mecanismo potencial por causar a sensibilização da pele, assim como nos precursores do alquil aldeído, pode ser em decorrência do prehapteno produzir um eletrófilo com potencial formação de base de Schiff (APTULA; ROBERTS, 2006). Conhecidos como aceptores de Michael, os compostos carbonílicos α,β -insaturados podem interagir covalentemente com sítios nucleofílicos endógenos no DNA e proteínas, que pode desencadear por sua vez, em doenças como dermatite de contato alérgica e carcinogenicidade, devido à modificação irreversível que pode causar nas biomoléculas (MULLINER; SCHÜRMANN, 2013). Por fim, o último alerta da molécula foi por meio da sinalização do farmacóforo HERG I, no qual foi baseado a partir do alinhamento de diferentes compostos com conhecidas propriedades inibitórias sobre o canal de potássio HERG (CAVALLI et al., 2002; EKINS et al., 2002; PEARLSTEIN et al., 2003; GARRIDO et al., 2020).

5.5.2 Grupo dos flavonoides: produtos naturais e moléculas triadas

Todas as moléculas apresentaram alertas acima de quatro, com exceção da naringina, que foi sinalizado apenas dois alertas (Figura 13 e Tabela 7).

Tabela7 – Predição das propriedades toxicológicas das moléculas pertencentes ao grupo dos flavonoides, pelo programa *DEREK*

Moléculas	Total de alertas	Condição	Alerta
Selegilina	1	Distúrbios renais em mamíferos (<i>equivocal</i>)	Tipo benzfetamina
Apigenina	4	Sensibilização da pele (<i>plausible</i>) Modulação no receptor de estrogênio (<i>plausible</i>) Dano ao cromossomo <i>in vitro</i> (<i>plausible</i>)	Fenol substituído Resorcinol ou precursor Hidroxinaftaleno ou derivado Flavonoide
Baicaleína	4	Sensibilização da pele (<i>plausible</i>) Modulação no receptor de estrogênio (<i>plausible</i>) Carcinogenicidade (<i>plausible</i>) Dano ao cromossomo <i>in vitro</i> (<i>plausible</i>)	Derivado de 1,2-Dihidroxibenzeno Hidroxinaftaleno ou derivado 4-alkil éter fenol Catecol
Daidzeína	4	Sensibilização da pele (<i>equivocal</i>) Modulação no receptor de estrogênio (<i>plausible</i>) Teratogenicidade (<i>equivocal</i>)	Enol éter Fenol substituído Hidroxinaftaleno ou derivado 4',7-Dihidroxiflavona ou derivado
Genisteína	5	Sensibilização da pele (<i>plausible</i>) Modulação no receptor de estrogênio (<i>plausible</i>) Teratogenicidade (<i>equivocal</i>)	Enol éter Fenol substituído Resorcinol ou precursor Hidroxinaftaleno ou derivado 4',7-Dihidroxiflavona ou derivado
Hiperosídeo	5	Sensibilização da pele (<i>plausible</i>) Modulação no receptor de estrogênio (<i>plausible</i>) Dano ao cromossomo <i>in vitro</i> (<i>plausible</i>) Mutagenicidade <i>in vitro</i> (<i>plausible</i>)	Derivado de 1,2-Dihidroxibenzeno Resorcinol ou precursor Hidroxinaftaleno ou derivado Catecol Flavonol
Naringina	2	Sensibilização da pele (<i>plausible</i>)	Fenol substituído Resorcinol ou precursor
Puerarina	4	Sensibilização da pele (<i>equivocal</i>)	Enol éter Fenol substituído Hidroxinaftaleno ou derivado

		Modulação no receptor de estrogênio (<i>plausible</i>) Teratogenicidade (<i>equivocal</i>)	4',7-Dihidroxiflavona ou derivado
Quercetina	6	Sensibilização da pele (<i>plausible</i>) Modulação no receptor de estrogênio (<i>plausible</i>) Dano ao cromossomo <i>in vitro</i> (<i>probable</i>) Mutagenicidade (<i>probable</i>)	Derivado de 1,2-Dihidroxibenzeno Resorcinol ou precursor Hidroxicinaftaleno ou derivado Flavonoide Catecol Flavonol

Fonte: Autoria própria

Em relação às moléculas obtidas após a triagem (Figura 13 e Tabela 8), a quantidade de alertas reduziu, no qual o maior foi no valor de três para as moléculas ZINC11731186, ZINC66054782, ZINC66054809. E as que não tiveram nenhum alerta foram as ZINC16940671 e ZINC16941176. Isto demonstra que após a triagem, ocorreu a obtenção de estruturas com menor potencial tóxico.

Tabela 8 – Predição das propriedades toxicológicas das moléculas triadas a partir do grupo dos flavonoides, pelo programa *DEREK*

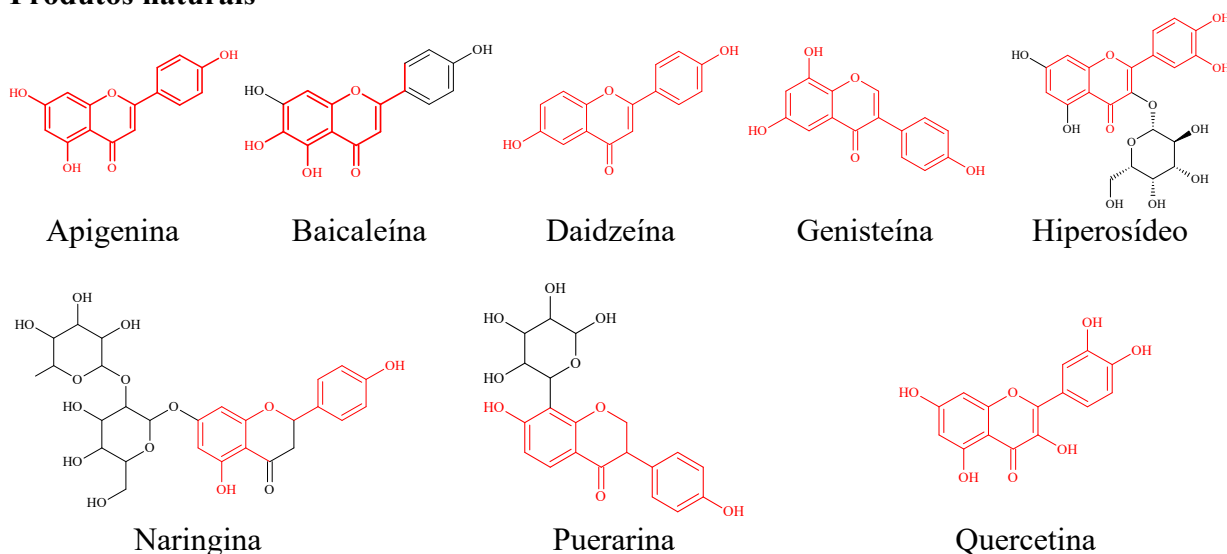
Moléculas	Total de alertas	Condição	Alerta
Selegilina	1	Distúrbios renais em mamíferos (<i>equivocal</i>)	Tipo benzfetamina
ZINC08015494	1	Modulação no receptor de estrogênio (<i>plausible</i>)	Hidroxicinaftaleno ou derivado
ZINC11731186	3	Toxicidade na medula óssea (<i>equivocal</i>) Modulação no receptor de estrogênio (<i>plausible</i>) Esplenotoxicidade (<i>equivocal</i>)	Anilina ou precursor Hidroxicinaftaleno ou derivado Anilina ou precursor
ZINC11847620	2	Dano ao cromossomo <i>in vivo</i> (<i>equivocal</i>) Modulação no receptor de estrogênio (<i>plausible</i>)	Fenol Hidroxicinaftaleno ou derivado
ZINC16940671	0	-	
ZINC16941176	0	-	
ZINC40164001	1	Modulação no receptor de estrogênio (<i>plausible</i>)	Hidroxicinaftaleno ou derivado
ZINC43100863	2	Modulação no receptor de androgênio (<i>plausible</i>)	4-(2,5-dioxopirrolidina-1-il) benzonitrila ou análogo Hidroxicinaftaleno ou derivado

		Modulação no receptor de estrogênio (<i>plausible</i>)	
ZINC66054781	2	Modulação no receptor de androgênio (<i>plausible</i>) Modulação no receptor de estrogênio (<i>plausible</i>)	4-(2,5-dioxopirrolidina-1-il) benzonitrila ou análogo Hidroxinaftaleno ou derivado
ZINC66054782	3	Modulação no receptor de androgênio (<i>plausible</i>) Modulação no receptor de estrogênio (<i>plausible</i>) Nefrotoxicidade (<i>equivocal</i>)	4-(2,5-dioxopirrolidina-1-il) benzonitrila ou análogo Hidroxinaftaleno ou derivado Benzeno halogenado
ZINC66054809	3	Modulação no receptor de androgênio (<i>plausible</i>) Modulação no receptor de estrogênio (<i>plausible</i>) Nefrotoxicidade (<i>equivocal</i>)	4-(2,5-dioxopirrolidina-1-il) benzonitrila ou análogo Hidroxinaftaleno ou derivado Nitrila aromática
ZINC66054868	1	Modulação no receptor de estrogênio (<i>plausible</i>)	4-(2,5-dioxopirrolidina-1-il) benzonitrila ou análogo
ZINC66054869	1	Modulação no receptor de estrogênio (<i>plausible</i>)	4-(2,5-dioxopirrolidina-1-il) benzonitrila ou análogo
ZINC71769254	1	Toxicidade ocular (<i>plausible</i>)	Purina base ou análogo
ZINC72342126	2	Nefrotoxicidade (<i>equivocal</i>) Sensibilização na pele (<i>equivocal</i>)	Benzeno halogenado Hidrazina ou precursor
ZINC72342127	1	Sensibilização na pele (<i>equivocal</i>)	Hidrazina ou precursor
ZINC72348050	2	Nefrotoxicidade (<i>equivocal</i>) Sensibilização na pele (<i>equivocal</i>)	Benzeno halogenado Hidrazina ou precursor

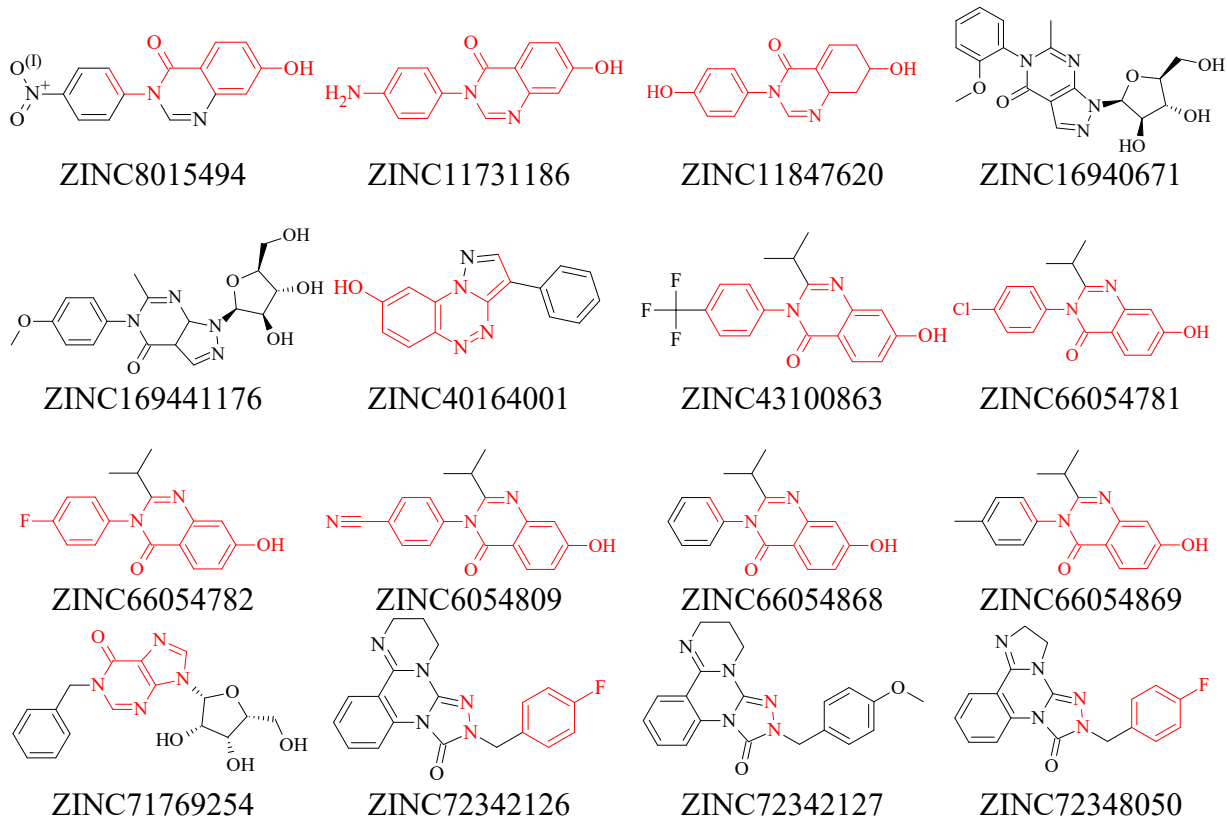
Fonte: Autoria própria

Figura 13 – Grupos toxicofóricos, representados em vermelho, dos flavonoides e moléculas triadas

Produtos naturais



Moléculas triadas



Fonte: Autoria própria

As moléculas apigenina, daidzeína, genisteína, naringina, puerarina apresentaram alerta para a condição sensibilização da pele em decorrência da presença em sua estrutura de um fenol substituído. Alguns exemplos de compostos derivados do fenol que causam sensibilidade na pele são 2,5-dimetilfenol, 3,4-dimetilfenol, pentaclorofenol e 2,4,5-triclorofenol, comprovados através do teste LLNA. Os mecanismos que podem estar associados são diversos, dentre os quais: 1. A retirada do átomo de hidrogênio da hidroxila pode gerar uma espécie de radical fenólico reativo; 2. Oxidação do anel que produz catecol ou hidroquinona correspondente, no qual esse processo oxidativo pode levar à formação de orto- ou para-quinonas eletrofílicas que são capazes de reagirem indiretamente com as proteínas da pele por meio da adição de Michael; 3. Os fenóis substituídos por orto- ou para-álquil podem causar a indução da sensibilização por meio da formação de orto- ou para-quinona metida, que por sua vez reagem com proteína da pele, também por adição de Michael (BARRATT; BASKETTER, 1992). A esse grupo toxicofórico também foi atribuído outro tipo de condição (dano ao cromossomo *in vitro*), sinalizado na molécula ZINC11847620.

A presença do grupo resorcinol ou derivado pode causar um alerta para sensibilização na pele e modulação do receptor do estrogênio. As moléculas apigenina e naringina sinalizaram alerta para esse grupo, que pode ser potencial para sensibilização na pele. Os mecanismos envolvidos para essa condição são muito semelhantes aos dos fenóis substituídos, conforme mecanismos anteriormente citados (BARRATT; BASKETTER, 1992).

O grupo que sinalizou maior quantidade de alertas, muito provável pela estrutura básica dos flavonoides, foi o hidroxinaftaleno e derivados. O naftaleno, inclusive, é um dos compostos do grupo dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos mais estudados, visto sua alta toxicidade (OLIVEIRA et al., 2019). Atribuída à condição de serem moduladores do receptor de estrogênio, o alerta foi identificado nas estruturas: apigenina, baicaleína, hiperosídeo, puerarina, quercetina, ZINC08015494, ZINC11731186, ZINC11847620, ZINC40164001, ZINC43100863, ZINC66054781, ZINC66054782 e ZINC66054809. De acordo com o programa DEREK, esses alertas foram baseados de acordo com as semelhanças estruturais de 339 compostos que foram avaliados quanto à atividade em receptores de estrogênio.

Apesar da estrutura base, o alerta para o grupo ‘flavonoide’, foi detectado somente nas moléculas apigenina e quercetina, como possíveis causadores de dano ao cromossomo *in vitro*, sendo a quercetina com maiores chances, visto sua comprovação em estudos (DUARTE SILVA et al., 2000). Segundo o programa DEREK, alguns mecanismos são associados a essas estruturas, como: formação de espécies reativas de oxigênio; oxidação do anel B a uma quinona ou semiquinona; provocar a intercalação do DNA; e por fim, inibir a ação da DNA topoisomerase II (DUARTE SILVA et al., 2000; SNYDER; GILLIES, 2002).

A presença do grupo 1,2-dihidroxibenzeno ou derivados, sinalizou alerta para sensibilização e como possível causador de dano ao cromossomo, nas moléculas baicaleína, hiperosídeo e quercetina. O mecanismo envolvido a esta última condição, de acordo com o Derek, está relacionado com a capacidade desses compostos de oxidarem semiquinonas e quinonas eletrofílicas, podendo causar danos oxidativos, propiciando assim, dano ao cromossomo (KALYANARAMAN; FELIX; SEALY, 1985).

Em relação ao alerta de carcinogenicidade pela baicaleína, esta foi correlacionada em decorrência da presença do grupo 4-álquil éter fenol, que de acordo com o *software* DEREK, devido a semelhança com outra estrutura, o hidroxianisol butilado, que possui conhecidas propriedades carcinogênicas, sendo inclusive classificado como carcinógeno do grupo 2B pela IARC (International Agency for Research on Cancer).

Assim como o alcaloide isorincofilina, o alerta para sensibilização da pele atribuído ao grupo éter enol, foi sinalizada nos flavonoides genisteína e puerarina. Ainda em relação a esses dois últimos, foi sinalizado um outro alerta, para teratogenicidade, pela presença do grupo 4,7'-dihidroxi-flavona ou derivado, no qual, segundo o programa, estruturas com essas características podem interagir com o receptor de estrogênio e, com isso, interferir no desenvolvimento normal do feto.

As moléculas hiperosídeo e quercetina apresentaram um alerta para mutagenicidade, devido ao grupo flavonol, sendo a quercetina a que apresenta maior potência, de acordo com o teste de Ames (RESENDE et al., 2012).

A molécula triada ZINC11731186, apresentou dois alertas para as condições toxicidade na medula e esplenotoxicidade, em razão da presença do grupo anilina ou precursor, que de acordo com o banco de dados do programa, de um conjunto de 1467 de compostos químicos com essas características, trinta e um sinalizaram alerta de protótipo rápido e quatro foram esplenotóxicos, enquanto para medula óssea, vinte tiveram alerta de protótipo rápido e doze foram tóxicos para medula óssea.

O alerta mais frequente apresentado pelo grupo das moléculas triadas foi para o grupo 4-(-2,5-dioxipirrolidina-1-il)-benzonitrila, que provoca a modulação no receptor do androgênio. As moléculas foram as de código ZINC43100863, ZINC66054781, ZINC66054872, ZINC66054809, ZINC66054868 e ZINC6054869. São característicos desses compostos, a presença de um anel aromático com um substituinte de retirada de elétrons -para ou -meta de um heteroátomo, sendo que este faz parte de um sistema de anel separado (HAMANN et al., 2007 GUO et al., 2011).

Devido à presença do benzeno halogenado nas ZINC66054782, ZINC72348050 e ZINC72342126, o programa alertou para possível nefrotoxicidade. Ainda relacionada a esta condição, a molécula ZINC66054809, sinalizou alerta em razão da presença da nitrila aromática.

O único alerta apresentado pela molécula ZINC71769254 foi devido a presença da purina básica em sua estrutura, que pode causar toxicidade ocular, de acordo com evidências, a exemplo da casos de atopia do epitélio pigmentar da retina associados ao tratamento da didanosina em crianças com HIV sintomático (WHITCUP et al., 1992).

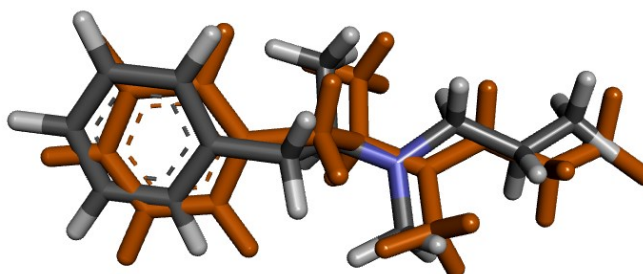
Por fim, o último toxicofórico apresentado foi a hidrazina ou precursor, indicativo de causar sensibilização da pele, presente nas moléculas ZINC72342126, ZINC72342127 e

ZINC72348050. De acordo com diversos dados analisados pelo programa DEREK, hidrazina é considerada como um alérgeno de contato significativo, mas que pelo motivo da falta de dados toxicológicas mais concretos, a probabilidade do cálculo foi definida como *equivocal*.

5.6 DOCKING MOLECULAR

Na etapa de validação ou *redocking* do método, o valor do RMSD obtido foi de 0,75 Å. Esse parâmetro avalia a qualidade de interação entre o ligante e a proteína, no qual valores abaixo de 2 Å são os mais aceitos, uma vez que indica alta precisão na identificação do ligante no sítio, indicando um correto encaixe em uma orientação espacial favorável, indentificado pelo programa, ou em outras palavras, é a capacidade preditiva de o programa reproduzir um resultado experimental (HEVENER et al., 2009; LÓPEZ-CAMACHO et al., 2016). As coordenadas de origem, na identificação do sítio, foram: x= 52,40; y= 156,72 e z=25,78 e o raio de validação obtido foi de 9,200 Å.

Figura 14 – Representação da melhor pose do ligante (laranja) comparado com a estrutura obtida no PDB (2BYB), na etapa de validação.



Para o *docking* molecular da molécula extraída do PDB foi retirada água e ligantes no DSV, mantendo somente a cadeia A para ser rodado no programa *GOLD*. Além disso, como a MAO-B é uma enzima FAD-dependente, para o cálculo, o co-fator permaneceu na proteína (VINA et al., 2013).

Neste estudo, foi realizada a simulação *docking* com a selegilina como ligante, de forma a comparar com as outras moléculas de interesse para esse estudo, em relação aos tipos de interações (Tabela 9). O *goldscore* apresentado no cálculo com a selegilina foi no valor de 64.07. Esse valor é importante para definir o grau de afinidade com o alvo e como consequência

influencia na seletividade da molécula. Nesse sentido, se um valor de *goldscore* for superior à selegilina, é indicativo de a molécula ter maior afinidade pelo alvo.

Tabela 9 – Análise da simulação do *docking* molecular entre a selegilina e a MAO-B

Molécula/ Nº de interações	Aminoácidos	Átomos do ligante	Categoria	Tipo	Distância	Score
Selegilina 14 interações	GLN206	H29	Ligação de H	Carbono	2,74	64,07
	TYR435	H30	Ligação de H	Carbono	2,69	
	CYS172	Ligante	Outro	π -Sulfur	4,95	
	TYR326	Ligante	Hidrofóbica	π - π T-shaped	5,02	
	LEU171	C1	Hidrofóbica	Alquil	3,69	
	TYR326	C1	Hidrofóbica	π -alquil	4,95	
	PHE343	C1	Hidrofóbica	π -alquil	5,13	
	TYR398	C14	Hidrofóbica	π -alquil	3,84	
	TYR435	C14	Hidrofóbica	π -alquil	4,02	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,20	
	ILE199	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	5,20	
	FAD600	C14	Hidrofóbica	π -alquil	3,91	
	FAD600	C14	Hidrofóbica	π -alquil	3,84	
	FAD600	C14	Hidrofóbica	π -alquil	5,38	

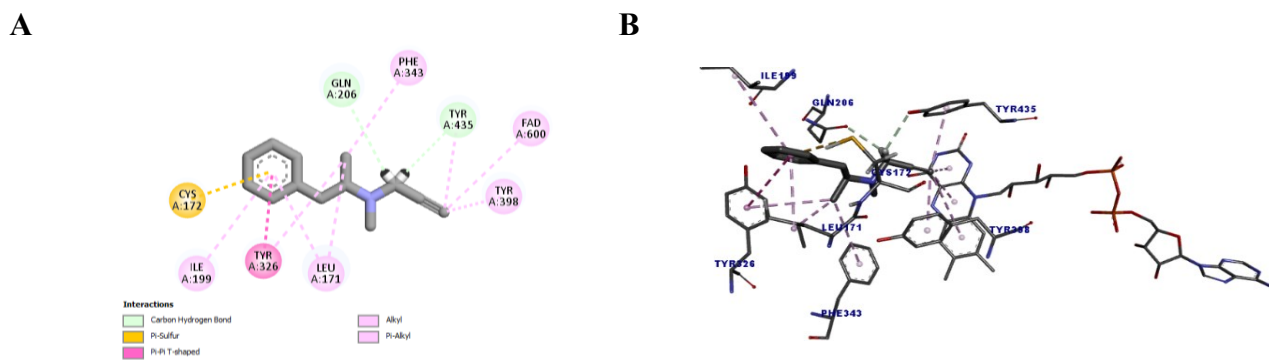
Fonte: Autoria própria

Conforme demonstrado na tabela 9, a selegilina apresentou 14 interações, das quais duas ligações de hidrogênio, envolvendo os aminoácidos Gln206 e Tyr435, do tipo carbono, com os átomos H29 e H30, com distância de 2,74 e 2,69 Å, respectivamente. Essas interações necessitam de maior aproximação do ligante para ocorrer, principalmente pelo tamanho do átomo de hidrogênio. Segundo a IUPAC, a ligação de hidrogênio é uma interação atrativa entre um átomo de hidrogênio de uma molécula ou resíduo com outro átomo mais eletronegativo que o H (ARUNAN et al., 2011). Com o aminoácido Cys172, devido à presença do átomo de enxofre, interagiu com o grupo aromático da selegilina (π -Sulfur), com uma distância de 4.95 Å (Figura 13).

O restante das interações foram todas hidrofóbicas, das quais uma π - π T-shaped, uma alquil e nove do tipo π -alquil. As ligações π - π T-shaped (Tyr326) são interações que ocorrem em sistemas cíclicos, que envolvem duplas ligações (ordem sp^2), em que ocorre a formação de um ângulo específico de cada anel aromático, que se parece com a letra T, por isso o nome (CHEN; LI; LIU, 2018). Em relação à interação alquil, esta ocorreu entre o C1 e a Leu171 da MAO-B. Por fim, o restante das interações, com os aminoácidos Tyr326, Phe343, Tyr398,

Tyr435, Ile199 e FAD, foram do tipo π -alquil, em que a porção alquila de uma molécula interage com o anel aromático da outra.

Figura 15 – Representação 2D (A) e 3D (B) da simulação do *docking* da melhor pose da selegilina, no alvo MAO-B



Fonte: Autoria própria

De acordo com o estudo desenvolvido por Colibus et al. (2005) os aminoácidos presentes no sítio ativo da MAO-B são: Tyr60, Gln65, Val82, Glu84, Leu88, Leu171, Cys172, Ile198, Ile199, Ser200, Thr201, Glu207 Thr-314, Ile316, Tyr326, Leu328, Met341, Phe343, Tyr398, Tyr435.

Viña e colaboradores (2012), ao realizarem o *docking* molecular de derivados da cumarina, para avaliar potencial atividade inibitória sob a enzima, perceberam participação do resíduo Cys172, que interagiu por meio de ligação de hidrogênio, com a carbonila da curmarina. Já a Tyr326, interagiu por meio de ligação hidrofóbica do tipo π - π , com os anéis 3-arilcumarina. Observou-se também interações de *van der Waals* e eletroestáticas com os resíduos: Phe168, Leu171, Ile198, Ile199, Ile316, Phe343, Tyr398 e Thy435.

Já na publicação de Brau et al (2012), quando analisou as interações entre diferentes ligantes (rasagilina, proposta 1, 2, e 4), detectou e comparou quais resíduos apareceram, para estabelecer com isso, os que possuem maior importância. Segundo os autores, os aminoácidos Tyr326, Tyr398, Tyr435, Phe168 e Trp119 estão presentes no sítio. Com a rasagilina, ocorreu interação entre Tyr326, Tyr398, Tyr435 e Phe168. Já com as propostas, as interações ocorreram via Tyr326, Tyr435 e Tyr398. E duas das propostas realizaram ligações hidrofóbicas, do tipo π -*stacking*, enquanto que o restante, interagiram por meio de ligações hidrofóbicas e hidrofílicas.

No trabalho elaborado por Mellado e colaboradores (2019), foi realizado o *docking* molecular entre chalconas preniladas e a MAO-B. Por meio desse estudo, um dos compostos mais ativos, quando testado *in vitro*, apresentou interação de hidrogênio com a Cys172 e Tyr435, e interações hidrofóbicas com os resíduos Tyr60, Trp119, Leu164, Leu167, Phe168, Leu171, Cys172, Ile199, Gln206, Ile316, Tyr326, Met341, Phe343, Tyr398, FAD600.

Com isso, é possível depreender que o *docking* foi validado e possibilitou a identificação do sítio ativo da enzima MAO-B, com aminoácidos essenciais, de acordo com achados na literatura.

5.6.1 *Docking* molecular do grupo dos alcaloides: produtos naturais e moléculas triadas

Em relação ao *docking* com as moléculas pertencentes ao grupo dos alcaloides (produtos naturais), pode-se perceber que ocorreu interação com os aminoácidos essenciais e muito dos quais apresentaram mais interações quando comparado ao *docking* da selegilina (Tabela 10).

Tabela 10 – Análise da simulação do *docking* molecular entre as moléculas pertencentes ao grupo dos alcaloides e a MAO-B

Molécula/ Nº de interações	Aminoácidos	Átomos do ligante	Categoria	Tipo	Distância	Score
Berberina 15 interações	ILE199	H42	Ligação de H	Carbono	2,54	88,25
	CYS172	Ligante	Outro	π -Sulfur	4,71	
	CYS172	Ligante	Outro	π -Sulfur	5,06	
	TYR398	Ligante	Hidrofóbica	π - π stacked	4,57	
	TYR326	Ligante	Hidrofóbica	π - π T-shaped	5,68	
	TYR326	Ligante	Hidrofóbica	π - π T-shaped	4,84	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	Alquil	4,69	
	TYR326	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	5,20	
	TYR398	C22	Hidrofóbica	π -alquil	3,81	
	TYR435	C22	Hidrofóbica	π -alquil	3,94	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,40	
	ILE199	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,59	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	3,84	
	FAD600	C22	Hidrofóbica	π -alquil	4,25	
	FAD600	C22	Hidrofóbica	π -alquil	4,18	
Coptisina 14 interações	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -Sigma	2,66	85,36
	CYS172	Ligante	Outro	π -Sulfur	2,83	
	CYS172	Ligante	Outro	π -Sulfur	5,90	
	TYR398	Ligante	Hidrofóbica	π - π stacked	5,74	

Epiberberina 16 interações	TYR326	Ligante	Hidrofóbica	π - π <i>T-shaped</i>	4,99	82,90
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	Alquil	4,07	
	CYS172	Ligante	Hidrofóbica	Alquil	4,62	
	ILE199	Ligante	Hidrofóbica	Alquil	5,28	
	ILE199	C23	Hidrofóbica	Alquil	4,37	
	ILE316	C23	Hidrofóbica	Alquil	4,26	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	5,48	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,74	
	ILE199	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,26	
	FAD600	O15	Ligação de H	Carbono	2,66	
	ILE199	O23	Ligação de H	Carbono	3,03	
	CYS172	Ligante	Outro	π - <i>Sulfur</i>	5,42	
	TYR326	Ligante	Hidrofóbica	π - π <i>T-shaped</i>	4,90	
	CYS172	Ligante	Hidrofóbica	Alquil	4,17	
	LEU164	Ligante	Hidrofóbica	Alquil	4,48	
Groelandicina 13 interações	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	Alquil	4,06	83,03
	ILE136	Ligante	Hidrofóbica	Alquil	5,13	
	TRP119	C1	Hidrofóbica	π -alquil	4,43	
	PHE168	C1	Hidrofóbica	π -alquil	5,44	
	TYR326	C25	Hidrofóbica	π -alquil	4,54	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,97	
	ILE199	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,13	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,03	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	5,19	
	FAD600	O23	Ligação de H	Convencional	3,03	
	CYS172	Ligante	Outro	π - <i>sulfur</i>	5,37	
	TYR398	Ligante	Hidrofóbica	π - π <i>stacked</i>	5,98	
	TYR326	Ligante	Hidrofóbica	π - π <i>T-shaped</i>	5,30	
	CYS172	Ligante	Hidrofóbica	Alquil	4,16	
	ILE316	Ligante	Hidrofóbica	Alquil	4,94	
Isorincofilina 8 interações	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	Alquil	4,13	28,32
	ILE199	Ligante	Hidrofóbica	Alquil	5,47	
	TYR326	C1	Hidrofóbica	π -alquil	4,76	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,96	
	ILE199	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,12	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,07	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	5,20	
	FAD600	O23	Ligação de H	Convencional	3,01	
	ILE199	Ligante	Hidrofóbica	Alquil	4,28	
	LEU164	C1	Hidrofóbica	Alquil	3,99	
	LEU171	C19	Hidrofóbica	Alquil	4,47	
	CYS172	C19	Hidrofóbica	Alquil	4,74	
	TYR326	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	5,48	
	LEU88	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	5,46	
	PRO102	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	5,49	
	ILE199	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	5,11	

Jatrorrizina 16 interações	ILE199	H41	Ligação de H	Carbon	2,32	80,49
	CYS172	Ligante	Outro	π -sulfur	5,02	
	TYR398	Ligante	Hidrofóbica	π - π stacked	5,99	
	TYR326	Ligante	Hidrofóbica	π - π T-shaped	5,03	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	Alquil	4,29	
	CYS172	Ligante	Hidrofóbica	Alquil	4,83	
	ILE199	Ligante	Hidrofóbica	Alquil	4,82	
	ILE316	C23	Hidrofóbica	Alquil	5,05	
	PHE168	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	5,21	
	TYR326	C23	Hidrofóbica	π -alquil	4,65	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,80	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	3,88	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	5,24	
	ILE199	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,02	
	FAD600	H26	Ligação de H	Carbono	2,51	
	FAD600	H28	Ligação de H	Carbon	2,88	
Leorunina 17 interações	ILE199	H40	Ligação de H	Convencional	2,08	77,15
	CYS172	O13	Ligação de H	Carbono	2,41	
	ILE198	H33	Ligação de H	Carbono	2,79	
	TYR398	Ligante	Hidrofóbica	π - π stacked	4,56	
	TYR435	Ligante	Hidrofóbica	π - π stacked	5,93	
	CYS172	Ligante	Hidrofóbica	Alquil	4,26	
	LEU328	C1	Hidrofóbica	Alquil	5,24	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	Alquil	4,46	
	ILE199	Ligante	Hidrofóbica	Alquil	5,10	
	PHE168	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	5,38	
	TYR326	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,37	
	PHE343	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	5,04	
	TYR398	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,16	
	TYR435	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	3,66	
	FAD600	O9	Ligação de H	Convencional	1,89	
	FAD600	C11	Hidrofóbica	π -alquil	3,80	
	FAD600	C11	Hidrofóbica	π -alquil	3,90	
Ligustrazina 12 interações	TYR398	Ligante	Hidrofóbica	π - π stacked	4,63	43,10
	CYS172	C8	Hidrofóbica	Alquil	3,53	
	ILE198	C8	Hidrofóbica	Alquil	4,37	
	LEU171	C9	Hidrofóbica	Alquil	3,82	
	PHE343	C10	Hidrofóbica	π -alquil	4,44	
	TYR398	C10	Hidrofóbica	π -alquil	3,91	
	TYR398	C1	Hidrofóbica	π -alquil	4,33	
	TYR435	C1	Hidrofóbica	π -alquil	4,28	
	FAD600	C1	Hidrofóbica	π -alquil	3,97	
	FAD600	C10	Hidrofóbica	π -alquil	5,03	
	FAD600	C1	Hidrofóbica	π -alquil	3,97	
	FAD600	C10	Hidrofóbica	π -alquil	4,59	
L-estefolidina	ILE198	H34	Ligação de H	Carbono	2,62	55,07

15 interações	TYR326	H31	Hidrofóbica	π -sigma	2,79	48,14
	TYR326	Ligante	Hidrofóbica	π - π T-shaped	4,98	
	PHE343	Ligante	Hidrofóbica	π - π T-shaped	5,17	
	CYS172	Ligante	Hidrofóbica	Alquil	4,44	
	ILE199	C1	Hidrofóbica	Alquil	3,63	
	ILE198	Ligante	Hidrofóbica	Alquil	5,36	
	TRP119	C1	Hidrofóbica	π -alquil	4,54	
	PHE168	C1	Hidrofóbica	π -alquil	4,74	
	TYR398	C23	Hidrofóbica	π -alquil	3,91	
	TYR435	C23	Hidrofóbica	π -alquil	4,75	
	ILE199	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,70	
	FAD600	O21	Ligação de H	Convencional	2,34	
	FAD600	C23	Hidrofóbica	π -alquil	4,24	
	FAD600	C23	Hidrofóbica	π -alquil	4,38	
Nicotina 8 interações	CYS172	Ligante	Outro	Pi-Sulfur	4,91	
	TYR326	Ligante	Hidrofóbica	π - π T-shaped	5,21	
	LEU167	Ligante	Hidrofóbica	Alquil	5,30	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	Alquil	5,13	
	ILE199	Ligante	Hidrofóbica	Alquil	4,43	
	ILE316	Ligante	Hidrofóbica	Alquil	4,81	
	ILE171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,32	
	ILE199	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,74	
Palmatina 21 interações	CYS172	O25	Ligação de H	Carbono	2,70	84,76
	ILE199	H44	Ligação de H	Carbono	2,37	
	TYR435	H47	Ligação de H	Carbono	2,59	
	CYS172	H48	Ligação de H	Carbono	2,81	
	CYS172	Ligante	Outro	π -Sulfur	5,06	
	TYR326	Ligante	Hidrofóbica	π - π T-shaped	4,91	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	Alquil	4,47	
	CYS172	Ligante	Hidrofóbica	Alquil	5,13	
	ILE199	Ligante	Hidrofóbica	Alquil	4,55	
	LEU164	C22	Hidrofóbica	Alquil	4,54	
	ILE199	C22	Hidrofóbica	Alquil	4,58	
	ILE316	C24	Hidrofóbica	Alquil	5,17	
	TRP119	C22	Hidrofóbica	π -alquil	5,43	
	TRP119	C22	Hidrofóbica	π -alquil	4,37	
	PHE168	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	5,22	
	TYR326	C24	Hidrofóbica	π -alquil	4,83	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,66	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	3,88	
	ILE199	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	3,86	
	FAD600	H27	Ligação de H	Carbono	2,66	
	FAD600	H29	Ligação de H	Carbono	3,00	

Fonte: Autoria própria

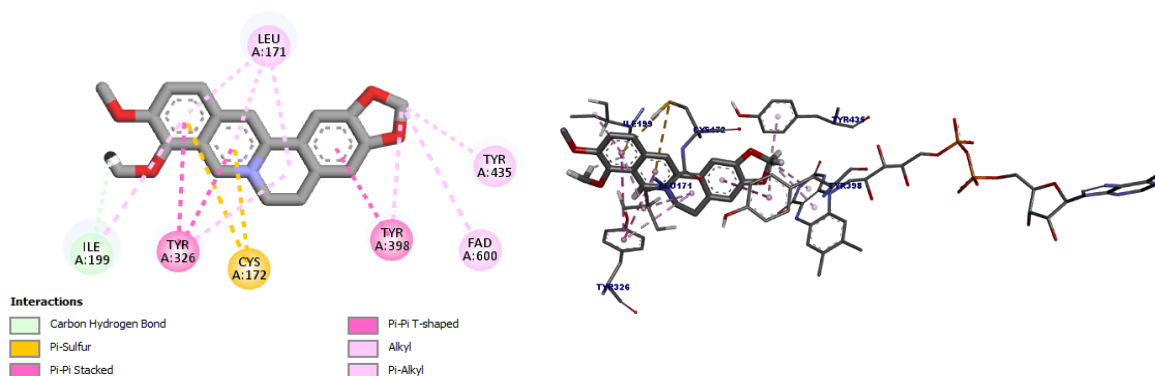
Por meio do *docking* desse grupo, pode-se estabelecer que a maioria das moléculas apresentou resultados semelhantes ou até mesmo superiores em relação à selegilina. Começando pela berberina, esta apresentou maior afinidade pelo sítio, que pode ser visualizada através do valor de *score* (88,25). De comportamento semelhante à esta última, a coptisina, epiberberina, groenlandicina e jatrorrizina apresentaram números de interações e grau de afinidade próximos, envolvendo aminoácidos importantes. A molécula ligustrazina, no entanto, mesmo que tenha tido bons resultados quanto ao número de interações, que foram no total de 17, a afinidade pelo alvo foi um pouco menor (77,15).

As moléculas que tiveram desempenhos piores, tanto em relação à quantidade de interações quanto de afinidade foram: L-estefolidina (15 interações/ *score*: 55,07), nicotina (8 interações/*score*: 48,14), ligustrazina (12 interações/*score*: 43,10) e isorincofilina (8 interações/*score*: 28,32). Inclusive destas, a nicotina e isorincofilina não interagiram com o FAD.

Em contrapartida, a molécula que teve o maior número de interações, totalizando 21, com um grau de afinidade de 84,76, foi a palmatina, em que apresentou uma maior quantidade de interações de hidrogênio, envolvendo os resíduos Cys172, Ile199, Tyr435, além do cofator FAD. Ocorreu a interação π -*sulfur* com a Cys172 e o restante das ligações todas foram hidrofóbicas, sendo uma π - π *T-shaped*, seis tipo alquil e sete do tipo π -aquil.

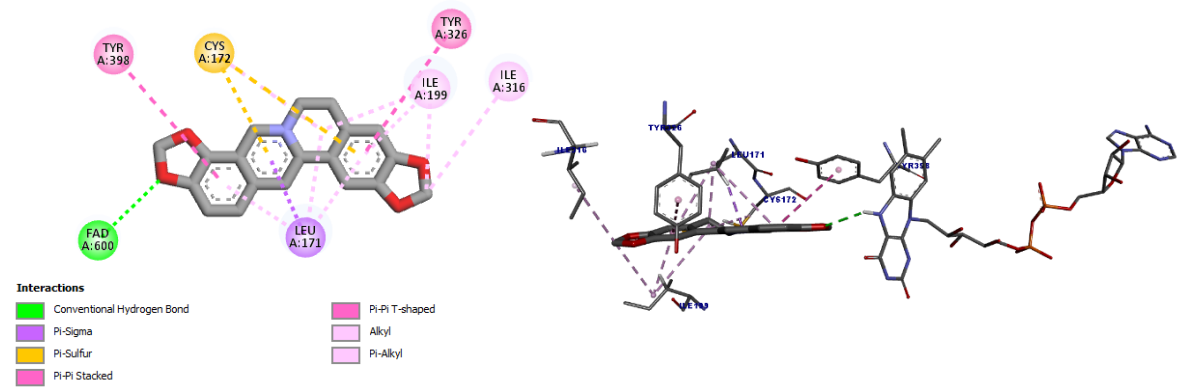
Figura 16 – Representação 2D e 3D da simulação do *docking* da melhor pose de cada molécula pertencente ao grupo dos alcaloides, no alvo MAO-B

Berberina

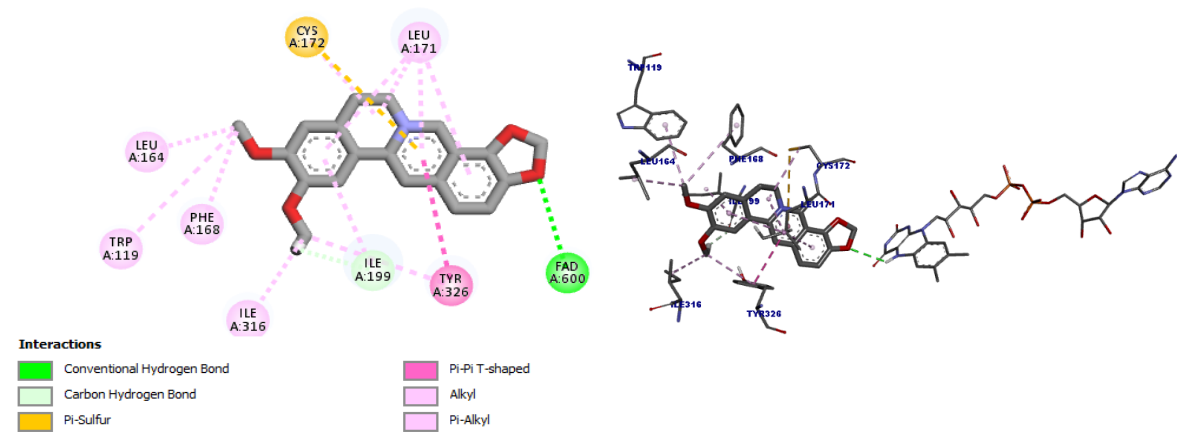


Continua...

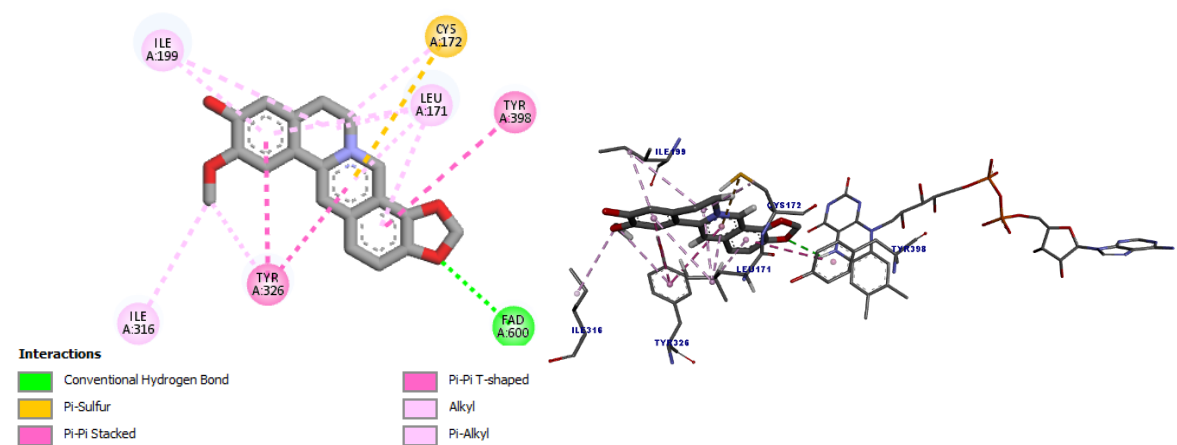
Coptisina



Epiberberina

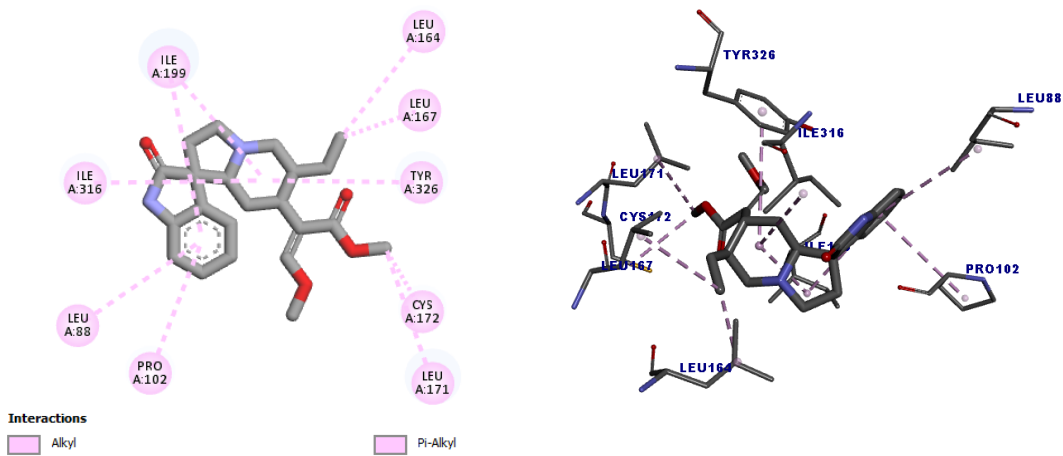


Groenlandicina

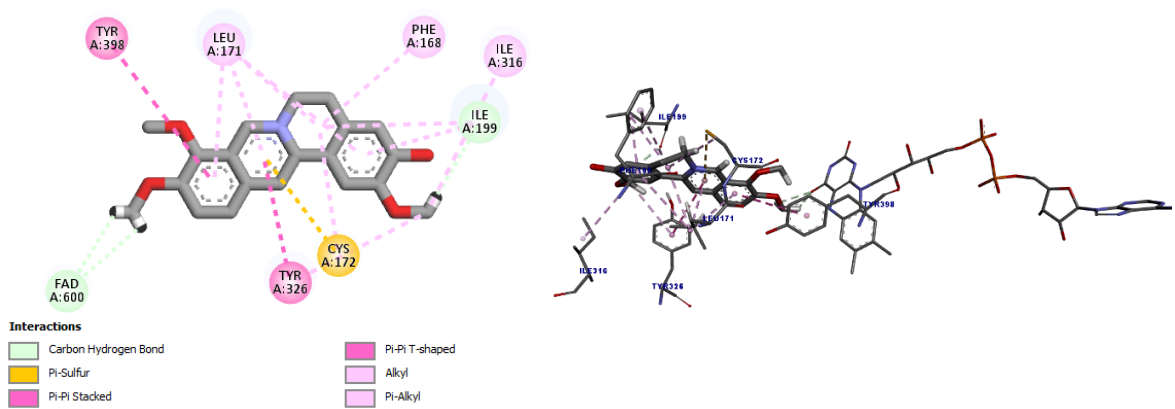


Continua...

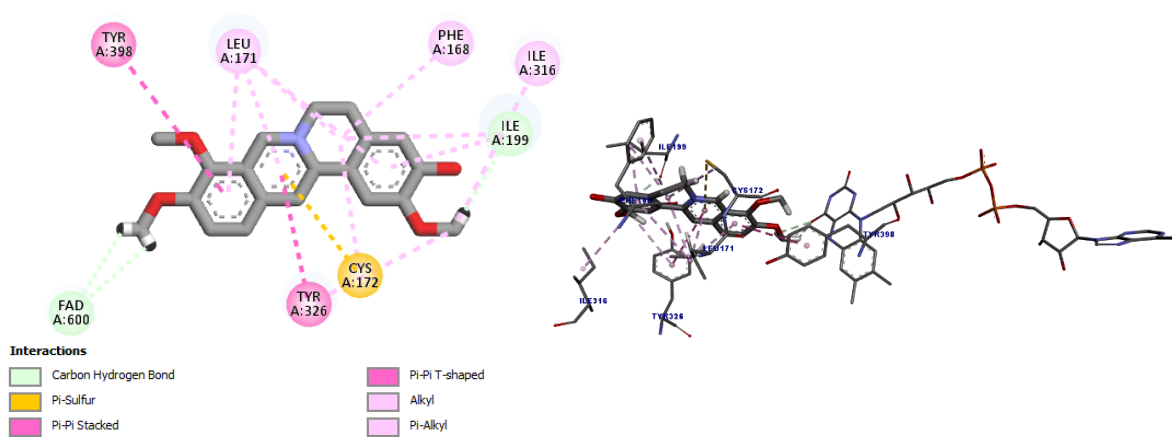
Isorincofilina



Jatrorizina

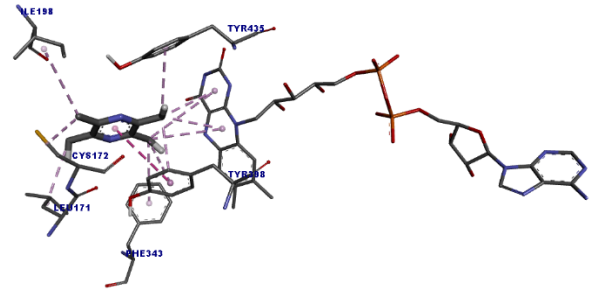
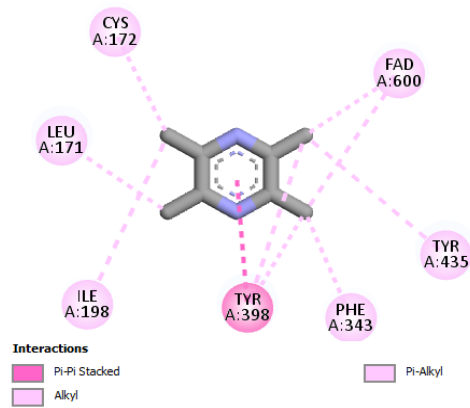


Leorunina

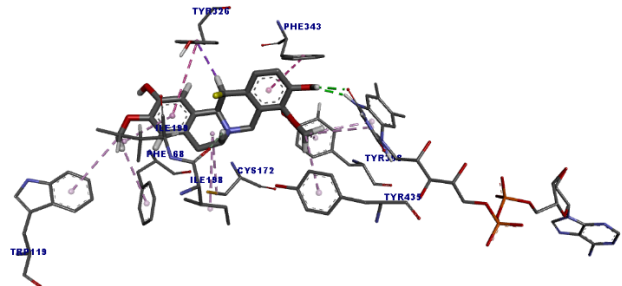
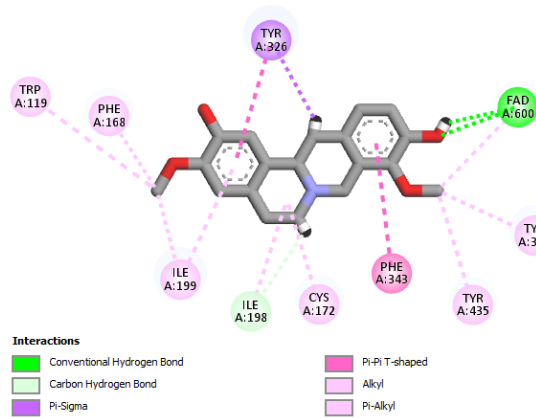


Continua ...

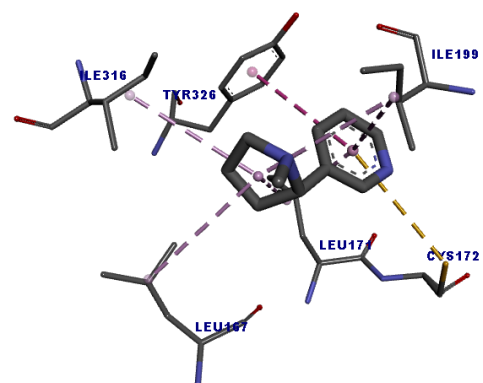
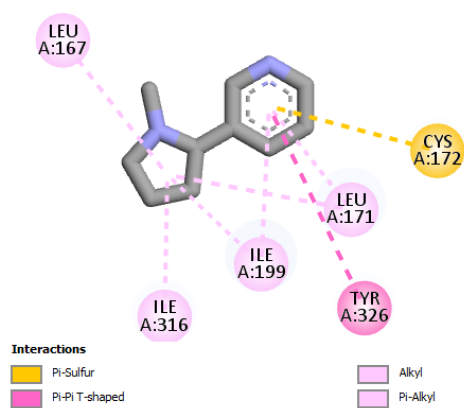
Ligustrazina



L-estefolidina

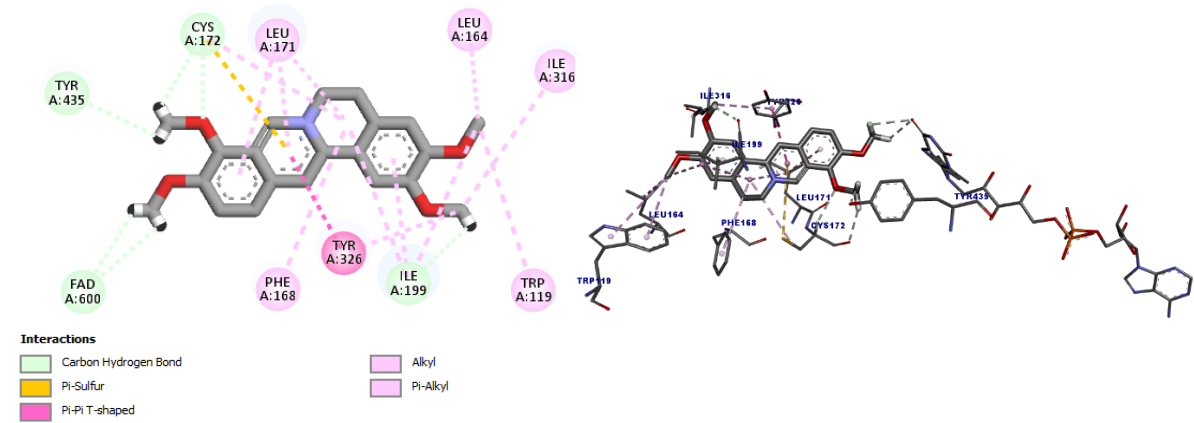


Nicotina



Continua...

Palmatina



Fonte: Autoria própria

Na análise do *docking* do grupo das moléculas triadas (Tabela 11), observou-se que ocorreu a interação com os aminoácidos de importância e muitos dos quais também apresentaram comportamento semelhante ou superiores à selegilina, para esse parâmetro.

Tabela 11 - Análise da simulação do *docking* entre moléculas triadas a partir do grupo dos alcaloides no alvo MAO-B

Molécula/ Nº de interações	Aminoácidos	Átomos do ligante	Categoria	Tipo	Distância	Score
ZINC00338118 13 interações	CYS172	H36	Ligação de H	Convencional	2,14	84,19
	ILE199	H42	Ligação de H	Carbono	2,49	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -sigma	2,79	
	CYS172	Ligante	Outro	π -sulfur	4,95	
	CYS172	Ligante	Outro	π -sulfur	5,02	
	CYS172	Ligante	Outro	π -sulfur	5,88	
	TYR398	Ligante	Hidrofóbica	π - π stacked	4,74	
	TYR326	Ligante	Hidrofóbica	π - π T-shaped	5,76	
	TYR326	Ligante	Hidrofóbica	π - π T-shaped	4,85	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	Alquil	4,58	
	TYR326	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	5,14	
	ILE199	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,37	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	3,93	
ZINC00338120 19 interações	CYS172	H36	Ligação de H	Convencional	1,94	88,10
	ILE199	H42	Ligação de H	Carbono	2,62	
	CYS172	Ligante	Outro	π -sulfur	5,83	
	CYS172	Ligante	Outro	π -sulfur	5,15	
	CYS172	Ligante	Outro	π -sulfur	4,69	
	TYR398	Ligante	Hidrofóbica	π - π stacked	5,61	

ZINC00597214 19 interações	TYR326	Ligante	Hidrofóbica	π - π <i>T-shaped</i>	4,91	78,62
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	Alquil	4,33	
	TYR326	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	5,02	
	TYR398	C23	Hidrofóbica	π -alquil	4,00	
	TYR435	C23	Hidrofóbica	π -alquil	4,76	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	5,28	
	ILE199	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	3,99	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,22	
	ILE199	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,91	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	5,36	
	FAD600	C23	Hidrofóbica	π -alquil	4,17	
	FAD600	C23	Hidrofóbica	π -alquil	4,16	
	ILE199	H51	Ligação de H	Carbono	2,92	
	ILE199	Ligante	Hidrofóbica	π - σ	3,65	
	TYR398	Ligante	Hidrofóbica	π - π <i>stacked</i>	5,64	
	TYR326	Ligante	Hidrofóbica	π - π <i>T-shaped</i>	4,85	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	Alquil	4,28	
	ILE198	C21	Hidrofóbica	Alquil	3,73	
	LEU171	C23	Hidrofóbica	Alquil	4,93	
ZINC01566934 16 interações	ILE198	C23	Hidrofóbica	Alquil	5,16	65,05
	PHE168	C23	Hidrofóbica	π -alquil	4,17	
	TYR188	C21	Hidrofóbica	π -alquil	4,88	
	TYR326	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,87	
	TYR398	C22	Hidrofóbica	π -alquil	4,54	
	TYR435	C21	Hidrofóbica	π -alquil	5,26	
	TYR435	C22	Hidrofóbica	π -alquil	4,94	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,34	
	ILE199	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,73	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	5,29	
	FAD600	C22	Hidrofóbica	π -alquil	4,11	
	FAD600	C22	Hidrofóbica	π -alquil	4,31	
	TYR398	Ligante	Hidrofóbica	π - π <i>stacked</i>	4,54	
	TYR435	Ligante	Hidrofóbica	π - π <i>stacked</i>	5,39	
	TYR326	Ligante	Hidrofóbica	π - π <i>T-shaped</i>	5,91	
	TYR326	Ligante	Hidrofóbica	π - π <i>T-shaped</i>	5,21	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	Alquil	4,94	
	CYS172	C24	Hidrofóbica	Alquil	3,12	
	ILE198	C24	Hidrofóbica	Alquil	3,63	
	TYR398	C20	Hidrofóbica	π -alquil	3,95	65,05
	TYR435	C20	Hidrofóbica	π -alquil	3,86	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,81	
	CYS172	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	5,20	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,05	
	CYS172	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	5,11	
	FAD600	C20	Hidrofóbica	π -alquil	3,83	
	FAD600	C20	Hidrofóbica	π -alquil	3,77	

ZINC01573431 16 interações	FAD600	C20	Hidrofóbica	π -alquil	5,43	83,55
	ILE199	C26	Ligação de H	Carbono	3,52	
	CYS172	Ligante	Outro	π -sulfur	4,69	
	CYS172	Ligante	Outro	π -sulfur	5,24	
	TYR398	Ligante	Hidrofóbica	π - π stacked	4,83	
	TYR326	Ligante	Hidrofóbica	π - π T-shaped	5,66	
	TYR326	Ligante	Hidrofóbica	π - π T-shaped	4,70	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	Alquil	4,81	
	TYR326	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,96	
	TYR398	C20	Hidrofóbica	π -alquil	3,87	
	TYR435	C20	Hidrofóbica	π -alquil	4,05	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,36	
	ILE199	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,63	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	3,91	
	FAD600	O19	Ligação de H	Convencional	2,79	
	FAD600	C20	Hidrofóbica	π -alquil	4,03	
	FAD600	C20	Hidrofóbica	π -alquil	4,01	
ZINC01575029 17 interações	ILE199	H50	Ligação de H	Carbono	2,63	73,62
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -sigma	2,84	
	TYR398	Ligante	Hidrofóbica	π - π stacked	4,79	
	TYR326	Ligante	Hidrofóbica	π - π T-shaped	5,58	
	TYR326	Ligante	Hidrofóbica	π - π T-shaped	4,68	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	Alquil	4,61	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	Alquil	5,01	
	ILE198	Ligante	Hidrofóbica	Alquil	4,63	
	ILE198	C24	Hidrofóbica	Alquil	3,22	
	TYR326	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,90	
	TYR398	C20	Hidrofóbica	π -alquil	3,92	
	TYR435	C20	Hidrofóbica	π -alquil	4,09	
	ILE199	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,24	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	3,96	
	FAD600	O19	Ligação de H	Convencional	2,75	
	FAD600	C20	Hidrofóbica	π -alquil	3,88	
	FAD600	C20	Hidrofóbica	π -alquil	3,89	
ZINC01596116 15 interações	ILE199	H41	Hydrogen	Carbono	2,48	81,06
	CYS172	Ligante	Outro	π -sulfur	4,58	
	CYS172	Ligante	Outro	π -sulfur	5,04	
	TYR398	Ligante	Hidrofóbica	π - π stacked	4,56	
	TYR435	Ligante	Hidrofóbica	π - π stacked	5,48	
	TYR326	Ligante	Hidrofóbica	π - π T-shaped	5,72	
	TYR326	Ligante	Hidrofóbica	π - π T-shaped	5,00	
	TYR398	C20	Hidrofóbica	π -alquil	3,90	
	TYR435	C20	Hidrofóbica	π -alquil	3,79	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,49	
	ILE199	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,54	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,05	

ZINC05526682 21 interações	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,94	69,41
	FAD600	C20	Hidrofóbica	π -alquil	4,26	
	FAD600	C20	Hidrofóbica	π -alquil	4,18	
	ILE198	H29	Ligação de H	Carbono	2,58	
	ILE199	Ligante	Hidrofóbica	π - σ	2,88	
	CYS172	Ligante	Outro	π -sulfur	5,22	
	TYR398	Ligante	Hidrofóbica	π - π stacked	5,88	
	TYR326	Ligante	Hidrofóbica	π - π T-shaped	4,85	
	CYS172	Ligante	Hidrofóbica	Alquil	4,10	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	Alquil	4,57	
	ILE198	Ligante	Hidrofóbica	Alquil	5,21	
	LEU328	Ligante	Hidrofóbica	Alquil	4,27	
	TYR60	C25	Hidrofóbica	π -alquil	4,55	
	TYR326	C25	Hidrofóbica	π -alquil	4,43	
	PHE343	C25	Hidrofóbica	π -alquil	5,03	
	TYR398	C24	Hidrofóbica	π -alquil	4,31	
	TYR435	C24	Hidrofóbica	π -alquil	4,63	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	5,02	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,21	
	ILE199	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,89	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	5,15	
	ILE316	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	5,31	
	FAD600	C24	Hidrofóbica	π -alquil	4,09	
	FAD600	C24	Hidrofóbica	π -alquil	4,25	

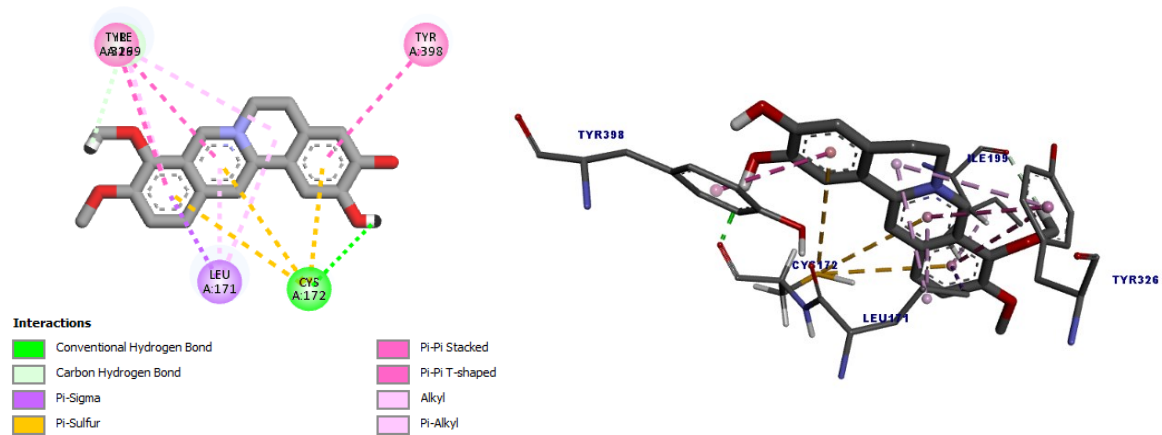
Fonte: Autoria própria

A molécula que apresentou menor número de interações foi a ZINC338118, com um total de 13 interações e mesmo com poucas interações, quando comparadas às outras moléculas, apresentou um dos *goldscore* mais elevado, no valor de 84,19. Em relação às moléculas ZINC01596116 (15 interações/*score*: 81,06), ZINC01566934 (16 interações/*score*: 65,05), ZINC0157331 (16 interações/*score*: 83,55), ZINC01575029 (17 interações/*score*: 73,62), tiveram número de interações próximos, ressaltando que a ZINC01566934 apresentou menor afinidade com a enzima.

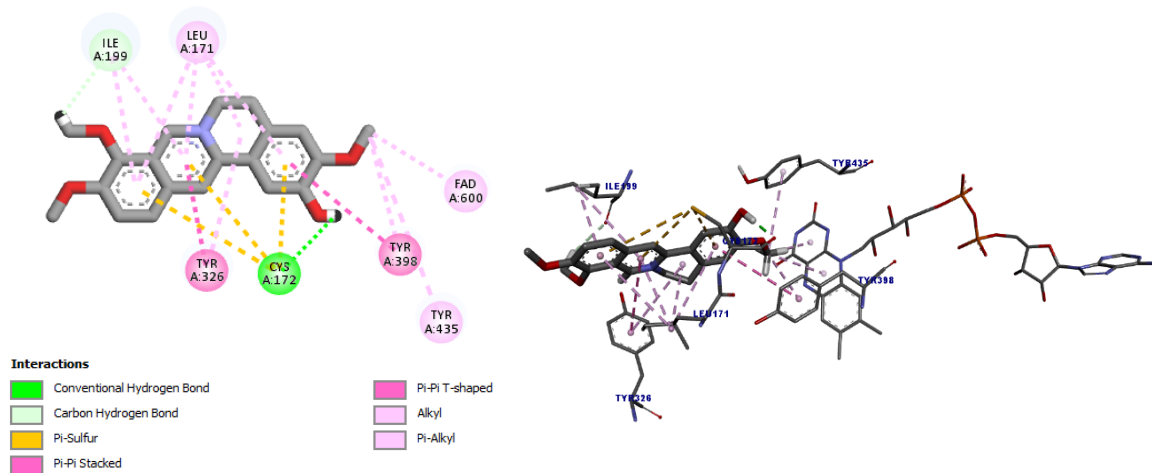
As moléculas ZINC0338120 (19 interações/*score*: 88,10), ZINC597214 (19 interações/*score*: 78,62) e ZINC5526682 (21 interações/*score*: 69,41), foram as que apresentaram melhores resultados, em nível de quantidades de interações. No entanto, apesar de a molécula ZINC5526682 ter interagido mais vezes, apresentou um dos *scores* mais baixos, indicando ser menos seletivo.

Figura 17 – Representação 2D e 3D da simulação do *docking* da melhor pose de cada molécula triada a partir do grupo dos alcaloides, no alvo MAO-B

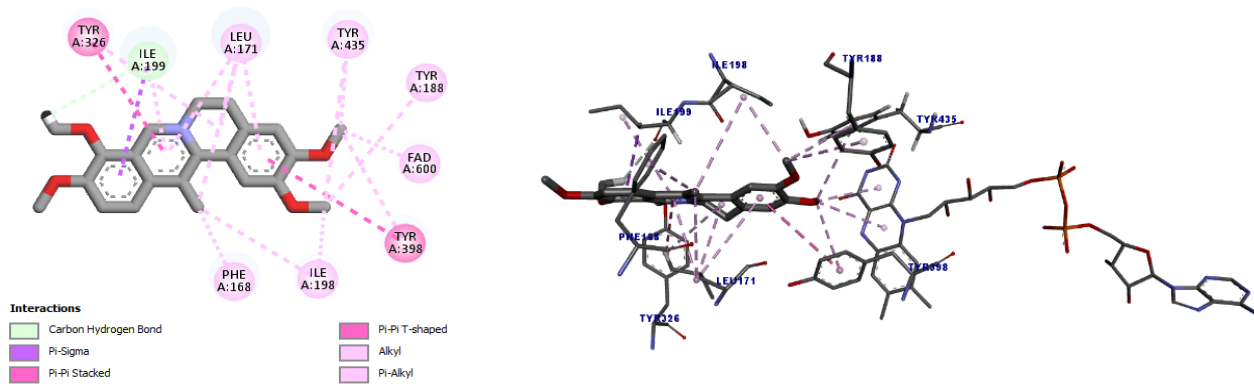
ZINC338118



ZINC338120

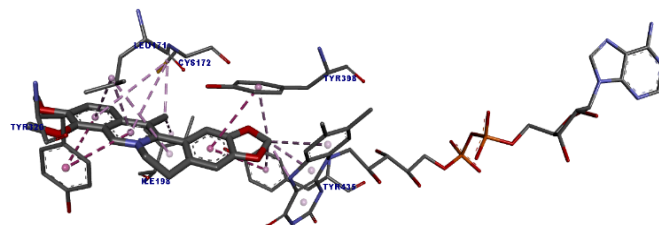
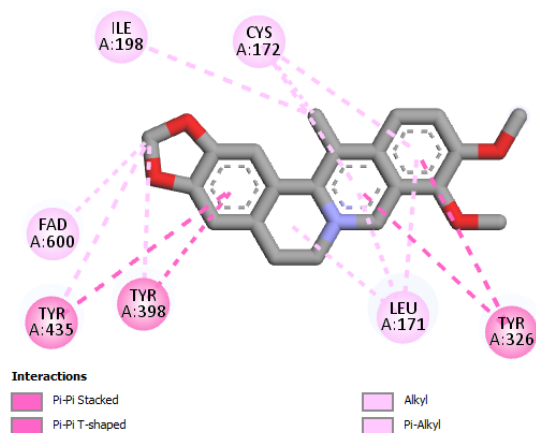


ZINC00597214

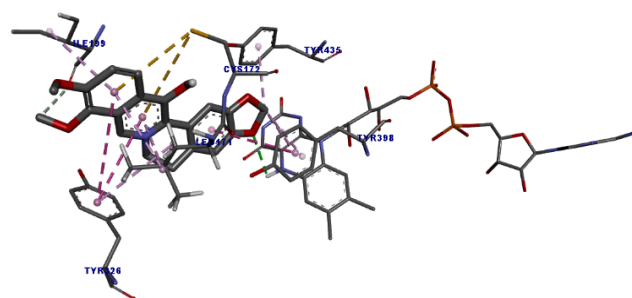
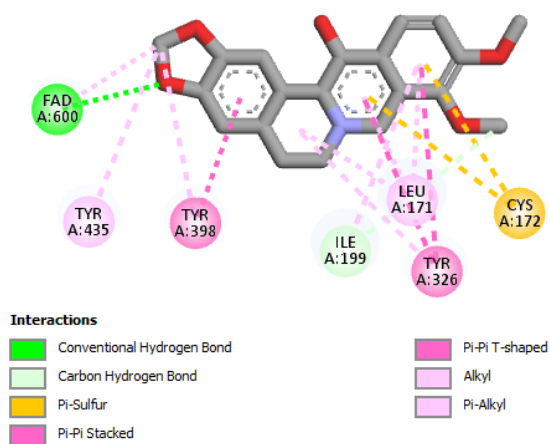


Continua ...

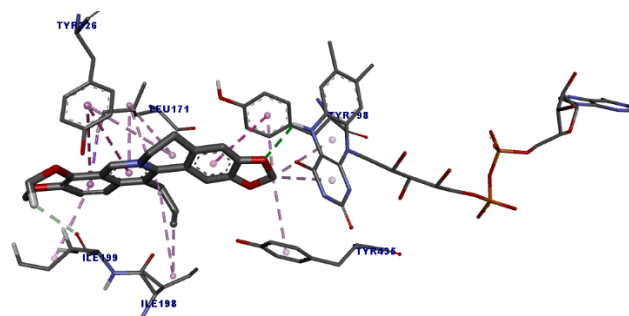
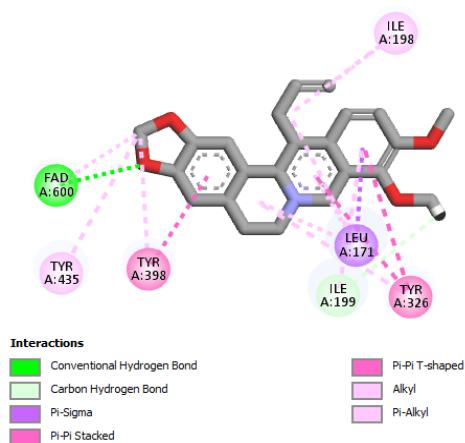
ZINC01566934



ZINC01573431

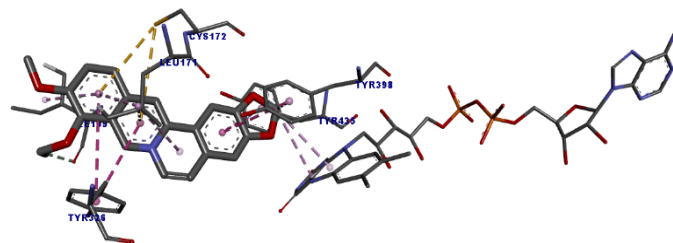
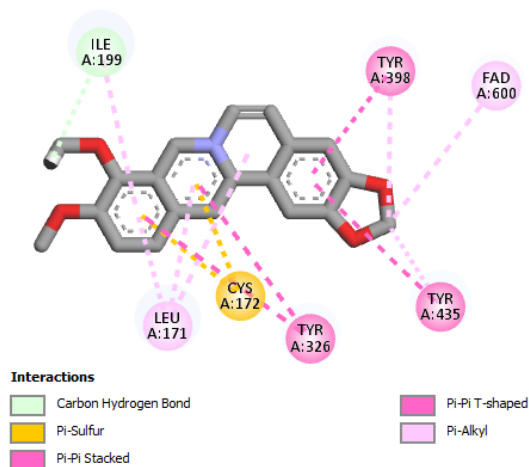


ZINC01575029

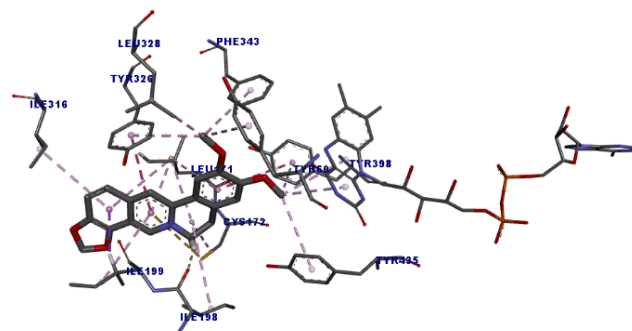
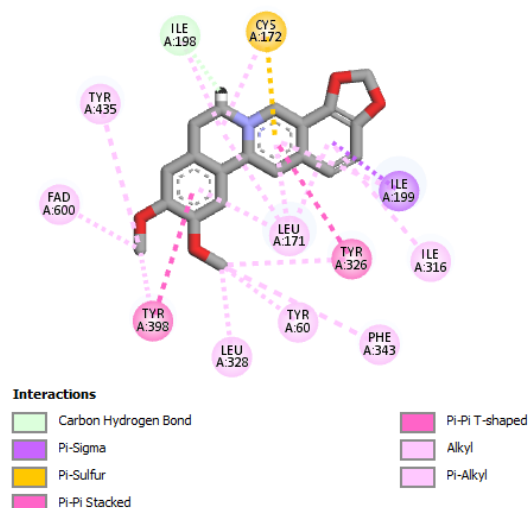


Continua ...

ZINC01596116



ZINC05526682



Fonte: Autoria própria

No trabalho desenvolvido por Al-Baghdadi e colaboradores (2012), ao analisar o potencial do alcaloide piperina e seus derivados, extraídos da espécie vegetal *Piper nigrum*, de inibir a enzima MAO-B, constatou por meio do estudo de *docking* que o anel metilenodioxifenil da piperina formou uma ponte aquosa com os resíduos Tyr188 e Cys172, se considerando um ambiente aquoso, e interagiu por meio de ligação de hidrogênio entre o anel aromático e o hidrogênio da hidroxila da Tyr398, em que foi destacada pelo autor, inclusive, como sendo uma interação comumente encontrada. Além disso, observou-se interação com o resíduo Ile199, usualmente encontrada em estudos de *docking* com inibidores da MAO-B, uma

vez que é considerado como um aminoácido essencial, visto que é tido como “*gate-keeper*” do alvo, ou no sentido literal da tradução, como “porteiro”.

Zhi e colegas (2014) avaliaram o potencial de alcaloides extraídos das folhas da *Desmodium elegans* de inibir as duas isoformas da MAO, tanto a MAO-A quanto a MAO-B. Os resultados apresentados, em relação à última isoforma citada, demonstraram que os ligantes interagiram com os resíduos Phe168, Cys172, Ile198, Ile199, Gln206 e Tyr326. O autor destacou que em decorrência da presença do grupo 3-hidroxi- β -ionona do novo alcaloide *desmodeleganine* e pelo fato de possuir maior volume molecular devido ao grupo, permitiu aumento da área de superfície e hidrofobicidade, o que possibilitou interação extra na cavidade hidrofóbica da MAO-B, contribuindo assim para maior força de interação. Inclusive, no ensaio enzimático, essa substância apresentou o maior potencial inibitório, quando comparado às outras estruturas testadas.

Outro estudo, com foco em outro alcaloide, a crinamina, Naidoo et al. (2020), realizaram o *docking* com o referido ligante e comparou a outros alcaloides, *epibuphanisine*, hemantamina, *haemanthidine*, e também com a selegilina, como molécula padrão. Observou-se por meio do estudo, que a crinamina apresentou, ao todo, seis interações hidrofóbicas, envolvendo os resíduos Leu171, Ile19, Tyr326, Tyr398 e Tyr435. A molécula *epibuphanisine*, interagiu com cinco resíduos (Phe168, Leu171, Ile199, Ile316 e Tyr326), por meio de interações hidrofóbicas. Ainda para este tipo de interação, a hemantamina e *haemanthiding*, apresentaram quatro interações, com os aminoácidos Tyr60, Gln206, Tyr326 e Tyr435, além de duas interações de hidrogênio com Tyr398 e Tyr435. Com isso, ao comparar com outros estudos, o autor reforçou que a MAO-B seja formada por um sítio de entrada pequeno, e que se expande para uma cavidade maior, onde o cofator FAD fica ligado. Além da Ile199, a Tyr326 também é considerada como “*gate-keeper*”, sendo importante para manter a conformação do sítio ativo da proteína, além de interagirem com diferentes ligantes, inclusive os com potencial inibitório sobre a MAO-B quando testados *in vitro*.

Othman e colaboradores (2022), ao investigarem o efeito neuroprotetor de sete alcaloides amidas, obtidos a partir da *Bassia indica* e *Agathophora alopecuroids*, constatarem no estudo de *docking* com a MAO-B como alvo terapêutico, que cada estrutura realizou ligações de hidrogênios com a Ile198 e Tyr432, além de ligações hidrofóbicas com a Leu171, Ile198, Ile199, Ile316 e Tyr398. Estabeleceram com isso, que essas estruturas possuem potencial

atividade, uma vez que interagiram com aminoácidos considerados essenciais, que estão presentes no sítio, por meio de ligações estáveis.

Nesse sentido, pode-se observar, que os resultados obtidos no presente estudo, demonstraram que as estruturas analisadas apresentam potencial atividade com ação sobre a enzima MAO-B, uma vez que a grande maioria apresentou interações chaves com resíduos de importância, conforme descritos na literatura.

5.6.2 Docking molecular do grupo dos flavonoides: produtos naturais e moléculas triadas

No que diz respeito ao *docking* do grupo dos flavonoides, percebeu-se que das nove moléculas testadas, apenas duas (genisteína e naringina) apresentaram números de interações acima da selegilina (Tabela 12).

Tabela 12 - Análise da simulação do *docking* entre as moléculas pertencentes ao grupo dos flavonoides e a MAO-B

Molécula	Aminoácidos	Átomos do ligante	Categoria	Tipo	Distância	Score
Apigenina 10 interações	CYS172	Ligante	Outro	π -sulfur	5,03	77,98
	CYS172	Ligante	Outro	π -sulfur	4,73	
	TYR398	Ligante	Hidrofóbica	π - π stacked	5,49	
	TYR398	Ligante	Hidrofóbica	π - π stacked	4,17	
	TYR326	Ligante	Hidrofóbica	π - π T-shaped	4,93	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,07	
	ILE199	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	5,07	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	5,28	
	FAD600	O18	Ligação de H	Convencional	2,03	
	FAD600	H28	Ligação de H	Convencional	2,84	
Baicaleína 9 interações	CYS172	Ligante	Outro	π -sulfur	4,79	72,77
	CYS172	Ligante	Outro	π -sulfur	5,09	
	TYR398	Ligante	Hidrofóbica	π - π stacked	5,36	
	TYR326	Ligante	Hidrofóbica	π - π T-shaped	5,42	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,11	
	ILE199	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,86	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,58	
	FAD600	O19	Ligação de H	Convencional	2,13	
	FAD600	H29	Ligação de H	Convencional	2,07	
Daidzeína 7 interações	CYS172	Ligante	Outro	π -sulfur	4,85	70,93
	TYR398	Ligante	Hidrofóbica	π - π stacked	3,91	
	TYR326	Ligante	Hidrofóbica	π - π T-shaped	5,17	

Genisteína 15 interações	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,11	76,56
	ILE199	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,95	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	5,13	
	CYS172	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,77	
	TYR326	O17	Ligação de H	Convencional	3,05	
	TYR326	O18	Ligação de H	Convencional	2,05	
	ILE199	H28	Ligação de H	Convencional	1,75	
	PHE168	O9	Ligação de H	Carbon	2,23	
	PHE168	H25	Ligação de H	Carbon	2,59	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,99	
	CYS172	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,30	
	ILE198	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	5,40	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,03	
	CYS172	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	5,23	
	ILE199	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,94	
Hiperosídeo 13 interações	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	5,29	62,77
	ILE199	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,37	
	ILE316	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	5,21	
	THR201	O32	Ligação de H	Convencional	2,09	
	TYR326	O20	Ligação de H	Convencional	2,90	
	LEU171	H49	Ligação de H	Convencional	2,09	
	ILE198	H50	Ligação de H	Convencional	2,45	
	ILE199	H51	Ligação de H	Convencional	1,94	
	GLU84	H53	Ligação de H	Convencional	1,67	
	PRO104	O18	Ligação de H	Carbono	2,24	
	ILE199	O30	Ligação de H	Carbono	2,59	
	ILE199	Ligante	Hidrofóbico	π -alquil	3,55	
	ILE316	Ligante	Hidrofóbico	π -alquil	5,15	
Naringina 18 interações	PRO104	Ligante	Hidrofóbico	π -alquil	4,96	33,76
	ILE199	Ligante	Hidrofóbico	π -alquil	4,73	
	ILE216	Ligante	Hidrofóbico	π -alquil	5,39	
	TYR188	O38	Ligação de H	Convencional	2,02	
	PHE168	H6	Ligação de H	Convencional	1,94	
	TYR188	O42	Ligação de H	Convencional	2,46	
	GLU84	H66	Ligação de H	Convencional	2,73	
	PHE168	O1	Ligação de H	Carbono	2,81	
	PHE168	O5	Ligação de H	Carbono	1,96	
	TYR188	H37	Ligação de H	Carbono	2,67	
	TYR435	C44	Ligação de H	Carbono	2,73	
	TYR398	C32	Hidrofóbica	π -alquil	5,18	
	TYR345	C32	Hidrofóbica	π -alquil	4,04	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	3,96	
	ILE199	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	5,40	
	ILE199	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	5,09	
	ILE316	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	5,47	
	FAD600	C32	Hidrofóbica	π -alquil	3,27	

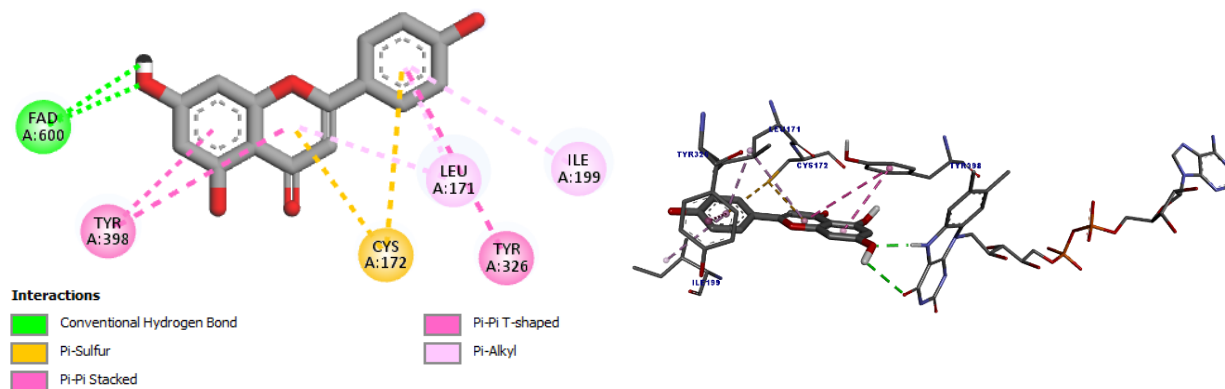
Pueararina 12 interações	FAD600	C32	Hidrofóbica	π -alquil	3,34	67,61
	FAD600	C32	Hidrofóbica	π -alquil	5,07	
	FAD600	H23	Ligação de H	Convencional	1,96	
	GLN206	H45	Ligação de H	Convencional	1,89	
	TYR398	H39	Ligação de H	Carbono	2,29	
	GLN206	H44	Ligação de H	Carbono	2,52	
	ILE199	Ligante	Hidrofóbica	π -sigma	2,77	
	TYR326	Ligante	Hidrofóbica	π - π <i>T-shaped</i>	5,13	
	ILE316	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	5,08	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,02	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	5,15	
	ILE198	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,87	
	FAD600	O26	Ligação de H	Convencional	1,89	
	FAD600	H46	Ligação de H	Convencional	1,99	
	FAD600	H43	Ligação de H	Carbono	1,90	
Quecertina 7 interações	TYR326	O21	Ligação de H	Convencional	1,95	72,35
	ILE199	H31	Ligação de H	Convencional	1,58	
	TYR398	Ligante	Hidrofóbica	π - π <i>stacked</i>	4,04	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,08	
	ILE199	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	5,09	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	5,35	
	FAD600	O18	Ligação de H	Convencional	1,95	

Fonte: Autoria própria

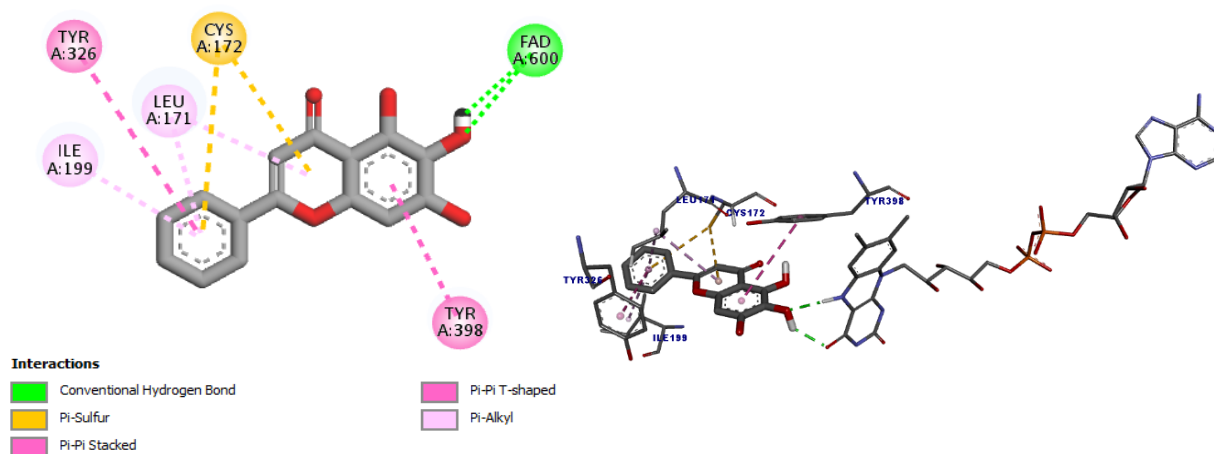
Nota-se que a molécula que apresentou melhor desempenho, do grupo dos produtos naturais, de forma geral, quando analisado as interações e afinidade foi a genisteína, em que apresentou ao todo quinze interações, sendo cinco ligações de hidrogênio, com os resíduos Tyr326, Ile199 e Phe168. Em relação ao restante das interações, todas foram hidrofóbicas, em que interagiu com os aminoácidos Leu171, Cys172, Ile198, Ile199 e Ile316 que são considerados importantes. Quanto à afinidade, apresentou um *goldscore* de 76,56, indicando possuir maior afinidade com o alvo, quando comparada à selegilina.

Figura 18 - Representação 2D e 3D da simulação do *docking* da melhor pose de cada molécula pertencente ao grupo dos flavonoides, no alvo MAO-B

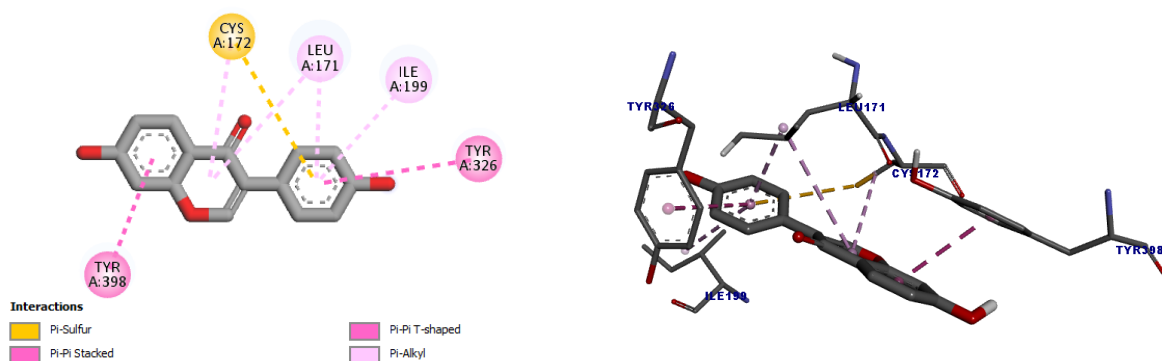
Apigenina



Baicaleína

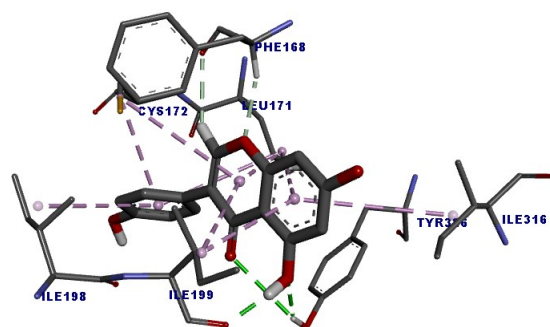
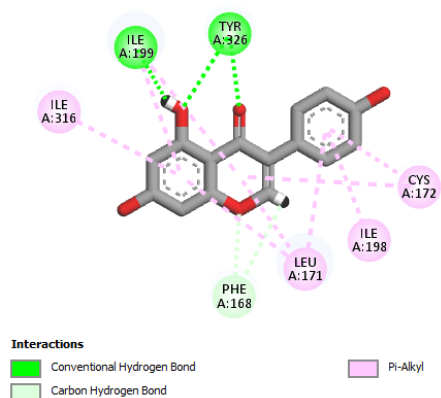


Daidzeína

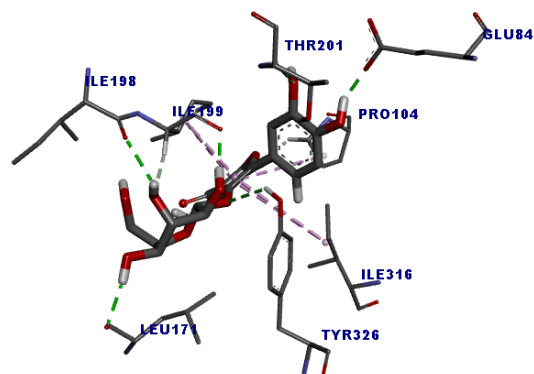
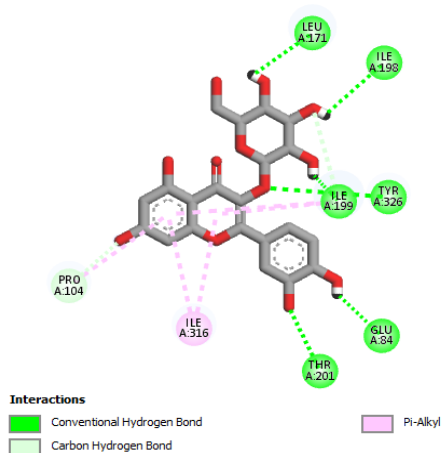


Continua ...

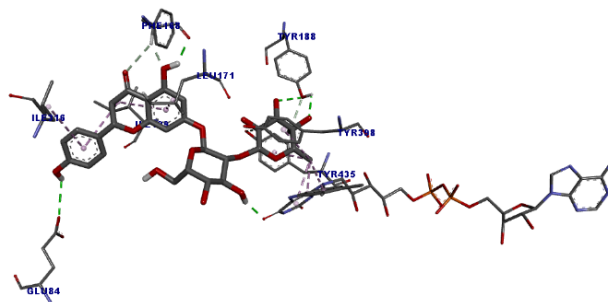
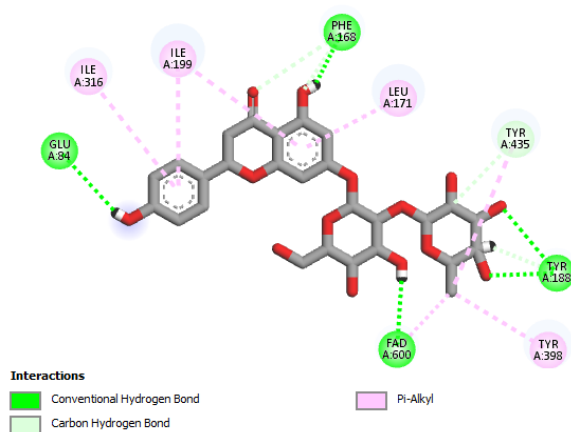
Genisteína



Hiperosídeo

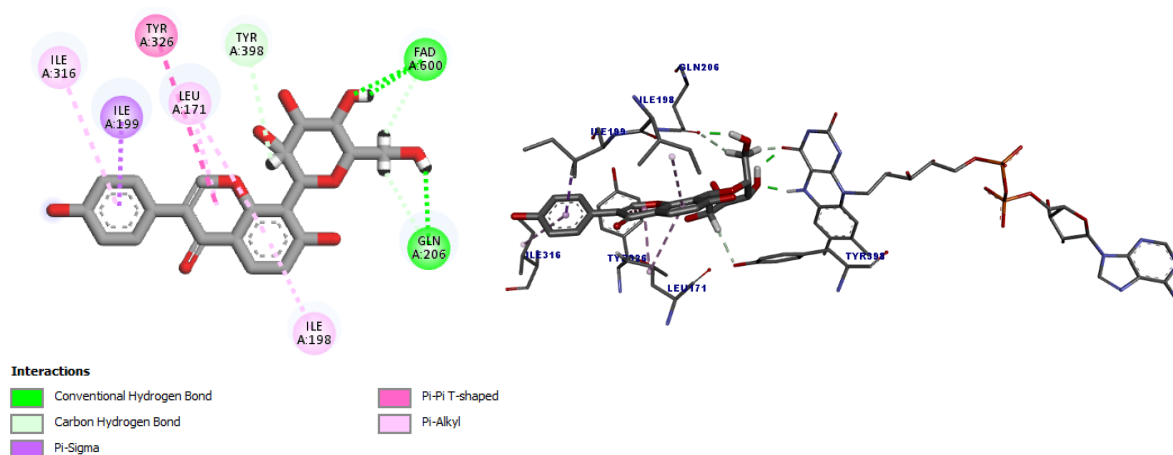


Naringina

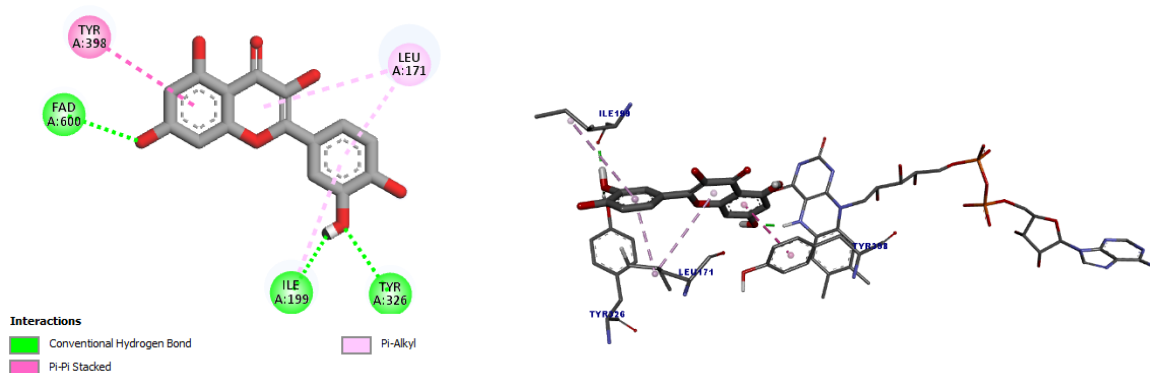


Continua ...

Puerarina



Quercetina



Fonte: Autoria própria

Quanto às moléculas obtidas após a triagem, os resultados apresentados também foram favoráveis (Tabela 13), das quais dez apresentaram quantidades de interações iguais ou superiores à selegilina (ZINC16940671; ZINC1691176; ZINC6605481; ZINC66054782; ZINC66054809; ZINC66054868; ZINC66054869; ZINC7179254; ZINC72342126; ZINC7232127).

Tabela 13 - Análise da simulação do *docking* entre as moléculas triadas do grupo dos flavonoides e a MAO-B

Molécula/ Nº de interações	Aminoácidos	Átomos do ligante	Categoria	Tipo	Distância	Score
ZINC08015494 11 interações	TYR326	O17	Ligação de H	Convencional	2,59	78,09
	CYS172	Ligante	Outro	π -sulfur	5,84	
	CYS172	Ligante	Outro	π -sulfur	4,72	

	TYR398	Ligante	Hidrofóbica	π - π stacked	5,51	
	TYR326	Ligante	Hidrofóbica	π - π T-shaped	5,22	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	5,07	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,03	
	ILE199	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	5,06	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	5,29	
	ILE199	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	3,92	
	FAD600	H31	Ligação de H	Convencional	2,06	
ZINC11731186 8 interações	TYR398	Ligante	Ligação de H	π - donor	4,00	70,74
	CYS172	Ligante	Outro	π -sulfur	5,07	
	TYR398	Ligante	Hidrofóbica	π - π stacked	4,21	
	TYR326	Ligante	Hidrofóbica	π - π T-shaped	5,06	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,25	
	ILE199	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,76	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	5,15	
	CYS172	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,85	
ZINC11847620 7 interações	CYS172	Ligante	Outro	π -sulfur	5,13	70,68
	TYR398	Ligante	Hidrofóbica	π - π stacked	4,28	
	TYR326	Ligante	Hidrofóbica	π - π T-shaped	5,04	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,27	
	ILE199	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,73	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	5,09	
	CYS172	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,85	
ZINC16940671 16 interações	CYS172	O19	Ligação de H	Convencional	2,81	62,78
	ILE199	H39	Ligação de H	Convencional	2,06	
	CYS172	O19	Ligação de H	Carbono	1,85	
	PHE168	H32	Ligação de H	Carbono	3,02	
	PRO102	H37	Ligação de H	Carbono	2,74	
	CYS172	H48	Ligação de H	Carbono	2,64	
	CYS172	Ligante	Outro	π -sulfur	5,03	
	CYS172	Ligante	Outro	π -sulfur	4,22	
	TYR398	Ligante	Hidrofóbica	π - π stacked	4,41	
	TYR326	Ligante	Hidrofóbica	π - π T-shaped	4,93	
	CYS172	Ligante	Hidrofóbica	Alquil	4,34	
	ILE198	Ligante	Hidrofóbica	Alquil	4,35	
	TYR326	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	3,74	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	3,91	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,32	
	ILE199	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,85	
ZINC16941176 19 interações	CYS172	O19	Ligação de H	Convencional	2,35	77,92
	GLN206	H35	Ligação de H	Carbono	2,30	
	CYS172	Ligante	Hidrofóbica	π -sigma	2,63	
	TYR326	Ligante	Hidrofóbica	π - π T-shaped	5,75	
	ILE198	Ligante	Hidrofóbica	Amide- π Stacked	4,51	
	LEU171	C1	Hidrofóbica	Alquil	3,79	
	PRO104	C28	Hidrofóbica	Alquil	4,94	

	LEU164	C28	Hidrofóbica	Alquil	4,67	
	ILE199	C28	Hidrofóbica	Alquil	4,61	
	TRP119	C28	Hidrofóbica	π -alquil	4,98	
	TYR326	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	2,89	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,42	
	CYS172	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,79	
	ILE198	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,59	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	5,34	
	ILE199	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	3,98	
	FAD600	O15	Ligação de H	Convencional	1,69	
	FAD600	H39	Ligação de H	Convencional	2,01	
	FAD600	H40	Ligação de H	Convencional	2,09	
ZINC40164001 12 interações	CYS172	N9	Ligação de H	Carbono	2,64	73,11
	CYS172	Ligante	Outro	π -sulfur	5,34	
	TYR398	Ligante	Hidrofóbica	π - π stacked	5,54	
	TYR398	Ligante	Hidrofóbica	π - π stacked	4,10	
	TYR326	Ligante	Hidrofóbica	π - π T-shaped	5,08	
	ILE198	Ligante	Hidrofóbica	Amide- π Stacked	4,53	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,34	
	ILE199	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,58	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	5,09	
	CYS172	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,10	
	ILE198	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,95	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,79	
ZINC43100863 11 interações	CYS172	Ligante	Outro	π -sulfur	5,68	70,34
	TYR398	Ligante	Hidrofóbica	π - π stacked	5,57	
	CYS172	C1	Hidrofóbica	Alquil	3,54	
	ILE198	C1	Hidrofóbica	Alquil	3,39	
	CYS172	C3	Hidrofóbica	Alquil	3,62	
	ILE198	C3	Hidrofóbica	Alquil	3,89	
	ILE199	C21	Hidrofóbica	Alquil	4,24	
	TYR435	C3	Hidrofóbica	π -alquil	5,28	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,59	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,21	
	ILE199	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,71	
	FAD600	O25	Ligação de H	Convencional	2,09	
ZINC66054781 18 interações	FAD600	H40	Ligação de H	Convencional	2,21	66,33
	GLY434	H37	Ligação de H	Convencional	2,09	
	CYS172	O13	Ligação de H	Carbono	2,00	
	TYR435	Ligante	Ligação de H	π -donor	3,20	
	CYS172	Ligante	Outro	π -sulfur	5,91	
	TYR398	Ligante	Hidrofóbica	π - π stacked	4,68	
	TYR398	Ligante	Hidrofóbica	π - π stacked	4,02	
	TYR435	Ligante	Hidrofóbica	π - π stacked	3,91	
	LEU171	C1	Hidrofóbica	Alquil	4,34	
	LEU171	Cl21	Hidrofóbica	Alquil	5,03	

ZINC66054782 16 interações	ILE199	CI21	Hidrofóbica	Alquil	3,97	68,54
	TYR60	C3	Hidrofóbica	π -alquil	4,47	
	TYR326	C1	Hidrofóbica	π -alquil	4,36	
	PHE343	C1	Hidrofóbica	π -alquil	4,73	
	PHE343	C3	Hidrofóbica	π -alquil	4,70	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,17	
	CYS172	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,90	
	FAD600	Ligante	Hidrofóbica	π - π <i>T-shaped</i>	5,03	
	FAD600	Ligante	Hidrofóbica	π - π <i>T-shaped</i>	5,05	
	CYS172	O13	Ligação de H	Carbono	2,59	
	GLY434	F21	Halogênio	Halogênio (Fluorina)	3,02	
	ILE199	Ligante	Hidrofóbica	π -sigma	2,80	
	TYR435	Ligante	Hidrofóbica	π - π <i>stacked</i>	4,16	
	TYR326	Ligante	Hidrofóbica	π - π <i>T-shaped</i>	5,39	
	TYR60	C1	Hidrofóbica	π -alquil	4,57	
ZINC66054809 15 interações	TYR326	C3	Hidrofóbica	π -alquil	4,44	68,11
	PHE343	C1	Hidrofóbica	π -alquil	5,44	
	PHE343	C3	Hidrofóbica	π -alquil	4,35	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,62	
	CYS172	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	5,48	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,39	
	CYS172	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	5,08	
	FAD600	F21	Halogênio	Halogênio (Fluorina)	3,64	
	FAD600	Ligante	Hidrofóbica	π - π <i>T-shaped</i>	5,00	
	FAD600	Ligante	Hidrofóbica	π - π <i>T-shaped</i>	5,05	
	GLY434	H38	Ligação de H	Convencional	2,09	
	CYS172	O13	Ligação de H	Carbono	1,99	
	CYS172	Ligante	Outro	π -sulfur	5,90	
	TYR398	Ligante	Hidrofóbica	π - π <i>stacked</i>	4,69	
	TYR398	Ligante	Hidrofóbica	π - π <i>stacked</i>	4,02	
ZINC66054868 15 interações	TYR435	Ligante	Hidrofóbica	π - π <i>stacked</i>	3,91	62,34
	LEU171	C1	Hidrofóbica	π -alquil	4,34	
	TYR60	C3	Hidrofóbica	π -alquil	4,47	
	TYR326	C1	Hidrofóbica	π -alquil	4,36	
	PHE343	C1	Hidrofóbica	π -alquil	4,73	
	PHE343	C3	Hidrofóbica	π -alquil	4,72	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,16	
	CYS172	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,90	
	FAD600	Ligante	Hidrofóbica	π - π <i>T-shaped</i>	5,04	
	FAD600	Ligante	Hidrofóbica	π - π <i>T-shaped</i>	5,06	
	GLY434	H37	Ligação de H	Convencional	2,26	
	CYS172	O13	Ligação de H	Carbono	2,06	
	CYS172	Ligante	Outro	π -sulfur	5,79	
	TYR398	Ligante	Hidrofóbica	π - π <i>stacked</i>	4,77	

	TYR398	Ligante	Hidrofóbica	π - π stacked	4,03	
	TYR435	Ligante	Hidrofóbica	π - π stacked	3,98	
	LEU171	C1	Hidrofóbica	Alquil	4,04	
	TYR60	C3	Hidrofóbica	π -alquil	4,60	
	TYR326	C1	Hidrofóbica	π -alquil	4,20	
	PHE343	C1	Hidrofóbica	π -alquil	4,77	
	PHE343	C3	Hidrofóbica	π -alquil	4,76	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,29	
	CYS172	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,79	
	FAD600	Ligante	Hidrofóbica	π - π T-shaped	5,09	
	FAD600	Ligante	Hidrofóbica	π - π T-shaped	5,12	
ZINC66054869 14 interações	GLY434	H40	Ligação de H	Convencional	2,09	
	CYS172	O10	Ligação de H	Carbono	2,05	
	CYS172	Ligante	Outro	π -sulfur	5,93	
	TYR398	Ligante	Hidrofóbica	π - π stacked	4,66	
	TYR398	Ligante	Hidrofóbica	π - π stacked	4,00	
	TYR435	Ligante	Hidrofóbica	π - π stacked	3,95	
	LEU171	C1	Hidrofóbica	Alquil	4,96	65,11
	ILE199	C1	Hidrofóbica	Alquil	3,99	
	TYR326	C19	Hidrofóbica	π -alquil	5,39	
	PHE343	C19	Hidrofóbica	π -alquil	5,31	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,16	
	CYS172	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,89	
	FAD600	Ligante	Hidrofóbica	π - π T-shaped	5,01	
	FAD600	Ligante	Hidrofóbica	π - π T-shaped	5,03	
ZINC71769254 18 interações	LEU171	H42	Ligação de H	Convencional	2,83	
	TYR398	H42	Ligação de H	Convencional	1,67	
	TYR435	H43	Ligação de H	Convencional	2,10	
	TYR435	H44	Ligação de H	Convencional	2,10	
	CYS172	O22	Ligação de H	Carbono	2,74	
	ILE198	C19	Ligação de H	Carbono	2,88	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -sigma	3,40	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -sigma	3,92	
	CYS172	Ligante	Outro	π -sulfur	5,28	86,06
	CYS172	Ligante	Outro	π -sulfur	5,73	
	TYR326	Ligante	Hidrofóbica	π - π T-shaped	5,32	
	TYR326	Ligante	Hidrofóbica	π - π T-shaped	4,56	
	PRO104	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	5,09	
	LEU164	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,79	
	ILE199	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,47	
	ILE316	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	5,47	
	ILE199	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,71	
	ILE199	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,87	
ZINC72342126 14 interações	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -sigma	3,48	
	CYS172	Ligante	Outro	π -sulfur	4,66	84,07
	CYS172	Ligante	Outro	π -sulfur	5,74	

	TYR398	Ligante	Hidrofóbica	π - π stacked	4,02	
	TYR398	Ligante	Hidrofóbica	π - π stacked	5,39	
	TYR435	Ligante	Hidrofóbica	π - π stacked	4,71	
	TYR326	Ligante	Hidrofóbica	π - π T-shaped	5,15	
	LEU328	Ligante	Hidrofóbica	Alquil	5,18	
	TYR60	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	5,01	
	TR326	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,63	
	PHE33	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,90	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,83	
	ILE199	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,56	
	FAD600	Ligante	Hidrofóbica	π - π T-shaped	5,15	
ZINC7232127 19 interações	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -sigma	2,51	
	CYS172	Ligante	Outro	π -sulfur	5,33	
	CYS172	Ligante	Outro	π -sulfur	4,61	
	TYR398	Ligante	Hidrofóbica	π - π stacked	5,15	
	TYR398	Ligante	Hidrofóbica	π - π stacked	3,90	
	TYR435	Ligante	Hidrofóbica	π - π stacked	4,51	
	TYR326	Ligante	Hidrofóbica	π - π T-shaped	5,32	
	LEU164	C1	Hidrofóbica	Alquil	5,09	
	LEU167	C1	Hidrofóbica	Alquil	4,49	
	ILE316	C1	Hidrofóbica	Alquil	3,95	85,35
	LEU328	Ligante	Hidrofóbica	Alquil	5,48	
	TYR60	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	5,01	
	TR326	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,93	
	PHE343	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,73	
	ILE199	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,51	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	5,11	
	ILE198	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	5,43	
	FAD600	Ligante	Hidrofóbica	π - π T-shaped	4,94	
	FAD600	Ligante	Hidrofóbica	π - π T-shaped	4,91	
ZINC72348050 12 interações	CYS172	O15	Ligação de H	Carbono	2,43	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -sigma	3,50	
	CYS172	Ligante	Outro	π -sulfur	5,65	
	TYR398	Ligante	Hidrofóbica	π - π stacked	4,03	
	TYR398	Ligante	Hidrofóbica	π - π stacked	5,45	
	TYR435	Ligante	Hidrofóbica	π - π stacked	4,92	82,22
	TYR326	Ligante	Hidrofóbica	π - π T-shaped	5,17	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	5,33	
	LEU171	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,77	
	CYS172	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,93	
	ILE199	Ligante	Hidrofóbica	π -alquil	4,53	

Fonte: Autoria própria

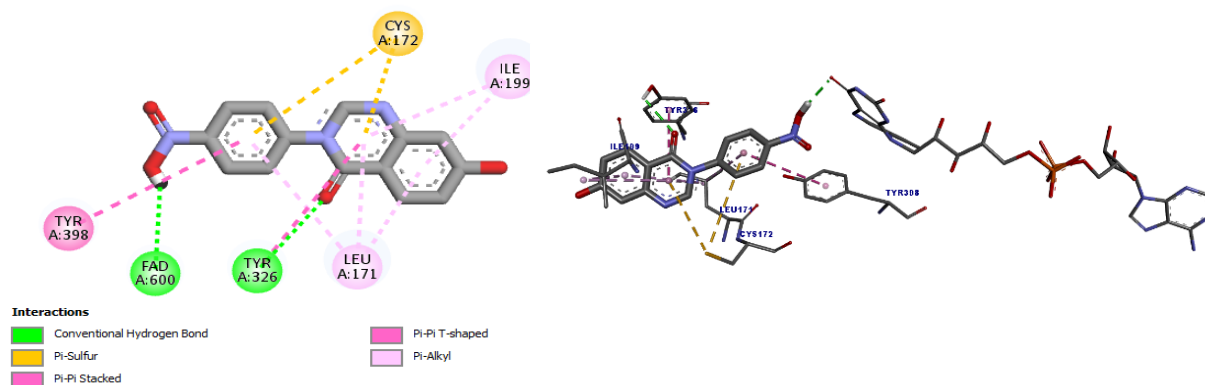
Em destaque, a molécula ZINC16941176, apresentou um total de dezenove (19) interações, sendo duas ligações de hidrogênio, com os resíduos Cys172 (O19) e Gln206 (H35),

do tipo convencional e de carbono, a uma distância de 2.35 e 2.30 Å, respectivamente. O restante todas foram hidrofóbicas, sendo uma π -sigma (Cys172), uma π - π *T-shaped* (Tyr326), uma amida- π *Stacked* (Ile198), quatro tipo alquil (Leu171, Pro104, Leu164 e Ile199), enquanto que as restantes todas foram do tipo π -alquil, com a interação com os aminoácidos Trp119, Tyr326, Cys172, Ile198, Leu171 e Ile199. As interações com o cofator foram todas ligações de hidrogênio, do tipo convencional. O *docking* dessa molécula demonstrou afinidade do ligante pelo sítio (*score*: 77,92), com um número favorável de interações.

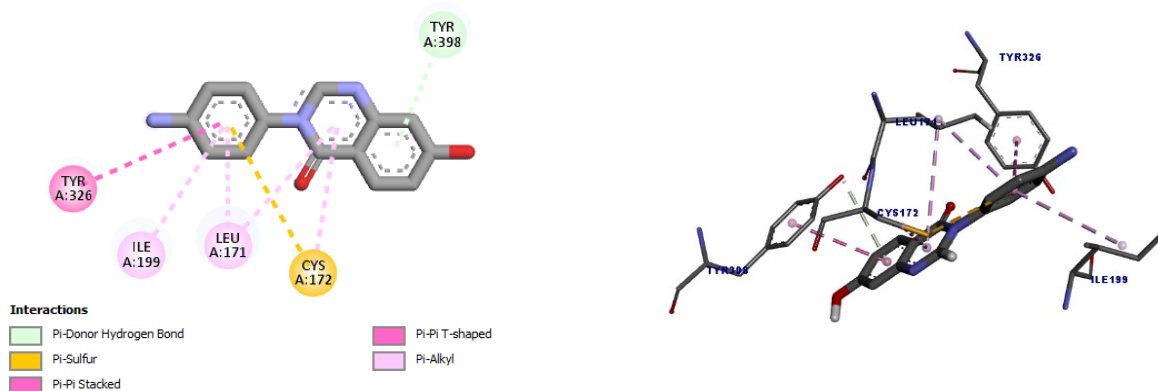
No entanto, outra molécula (ZINC7232127) apresentou maior afinidade pelo alvo (*score*: 85,35) e com o mesmo número de interações que a anterior. Essa molécula, por sua vez, não apresentou ligações de hidrogênio, somente as hidrofóbicas e as ligações π -sulfur, devido a interação com a Cys172.

Figura 19 - Representação 2D e 3D da simulação do *docking* da melhor pose de cada molécula triada a partir do grupo dos flavonoides, no alvo MAO-B

ZINC08015494

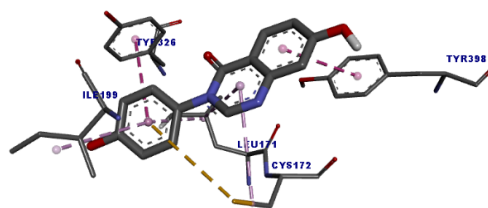
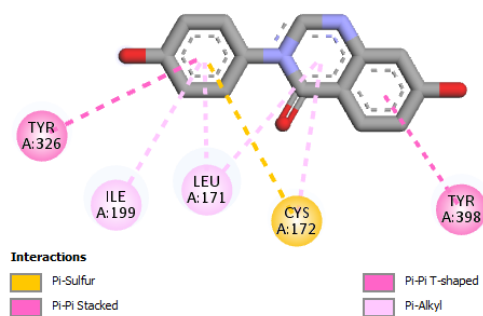


ZINC11731186

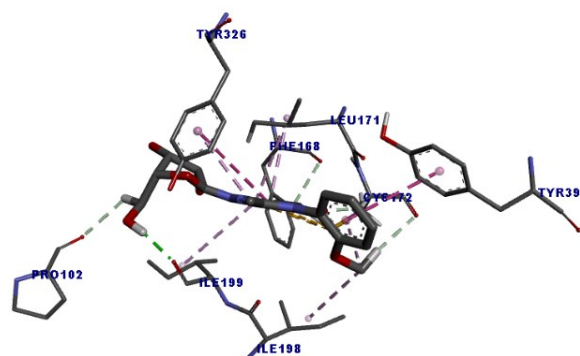
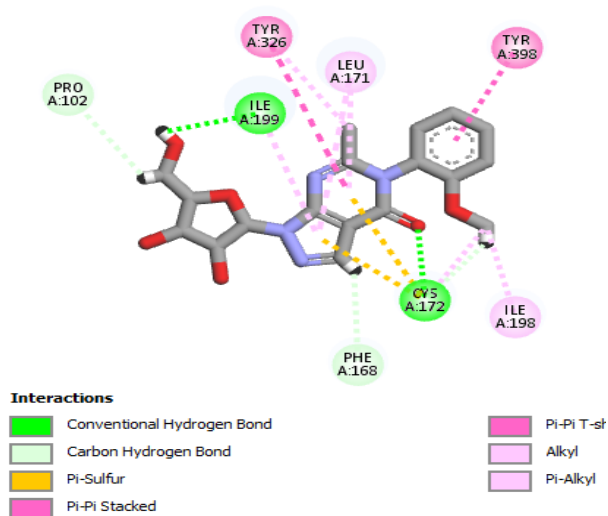


Continua ...

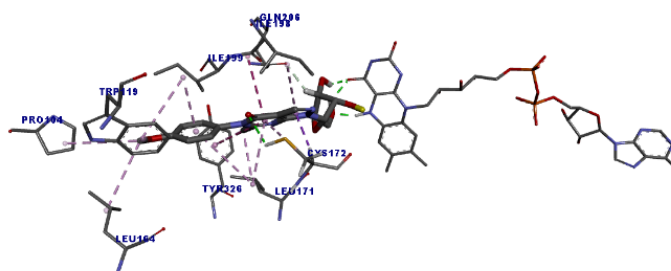
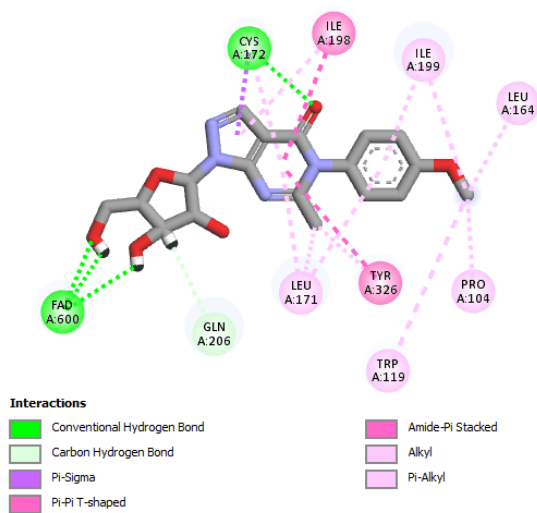
ZINC11847620



ZINC16940671

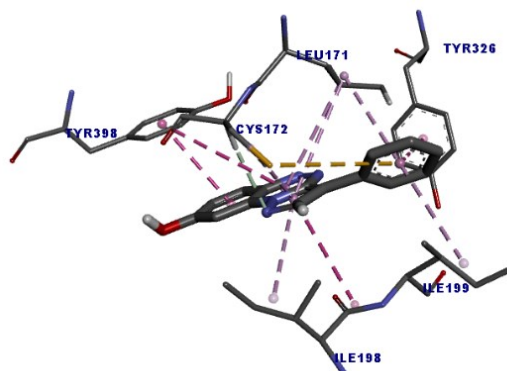
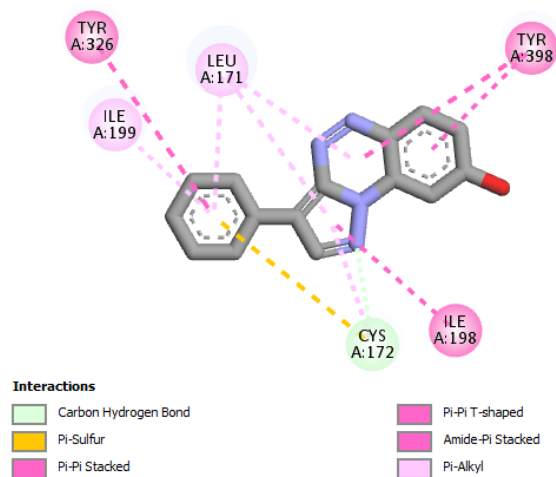


ZINC16941176

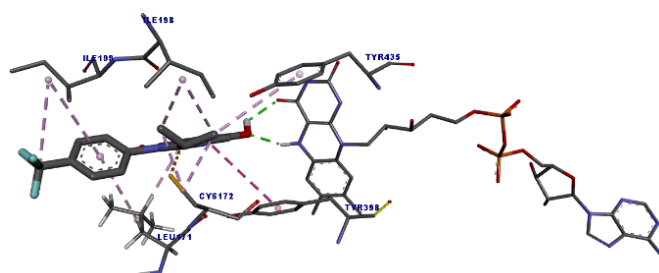
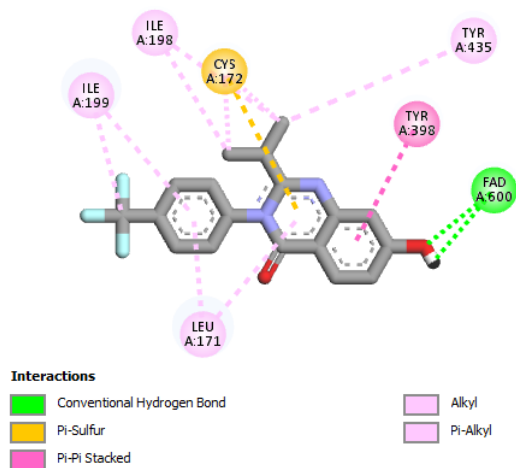


Continua ...

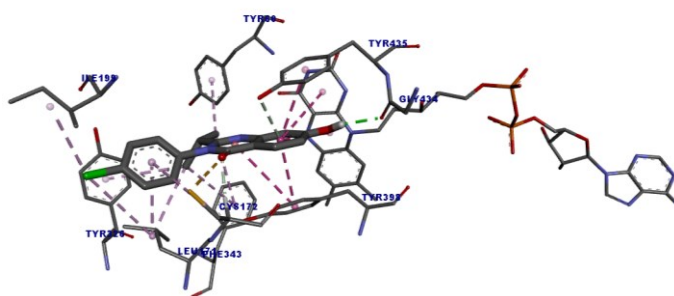
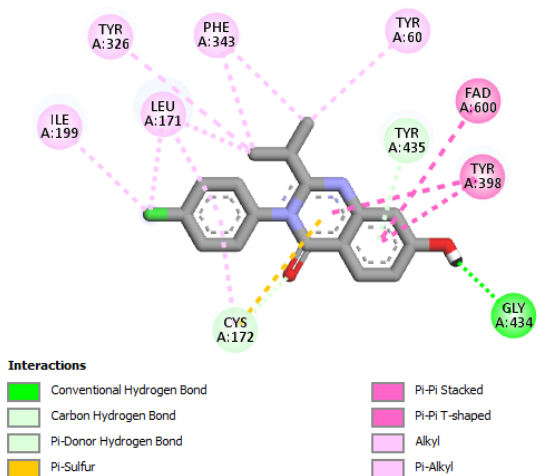
ZINC40164001



ZINC43100863

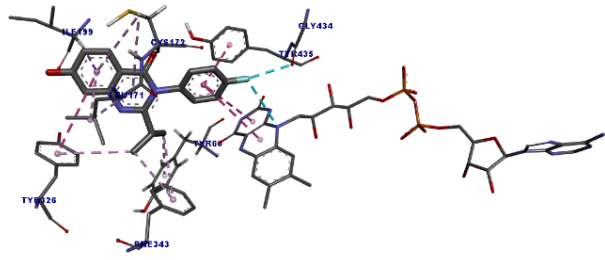
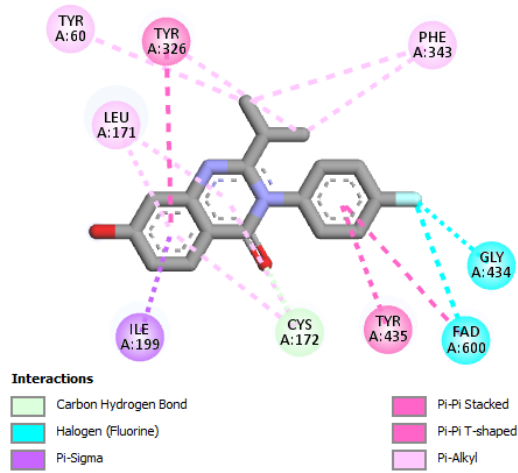


ZINC66054781

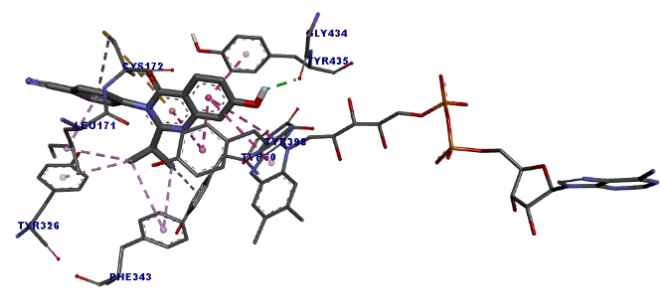
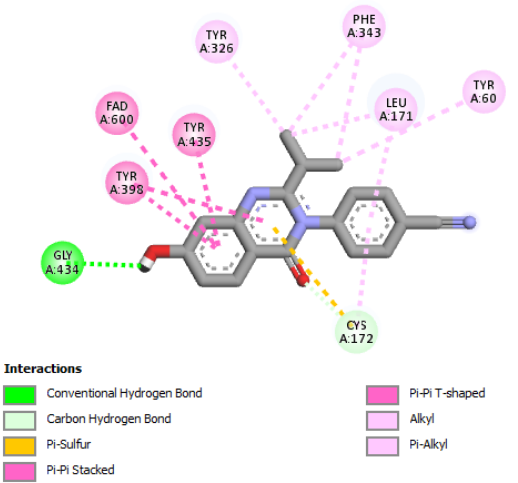


Continua ...

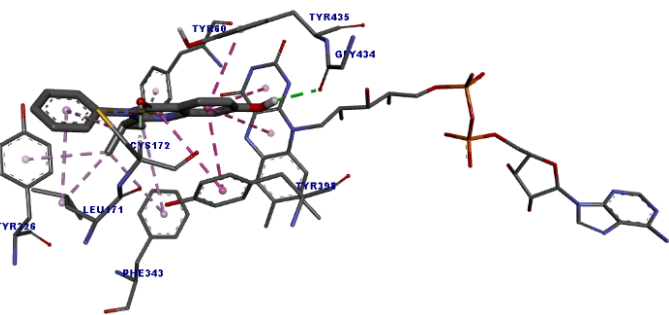
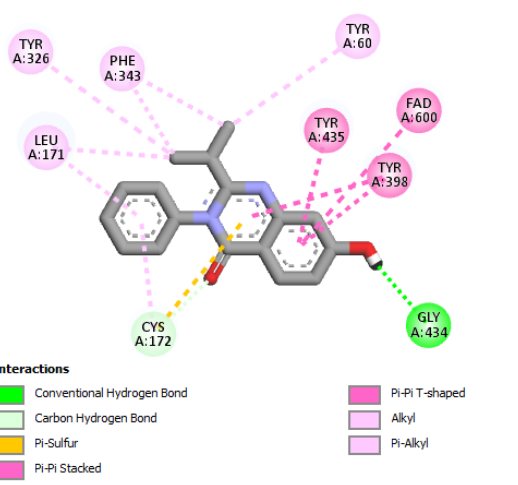
ZINC66054782



ZINC66054809

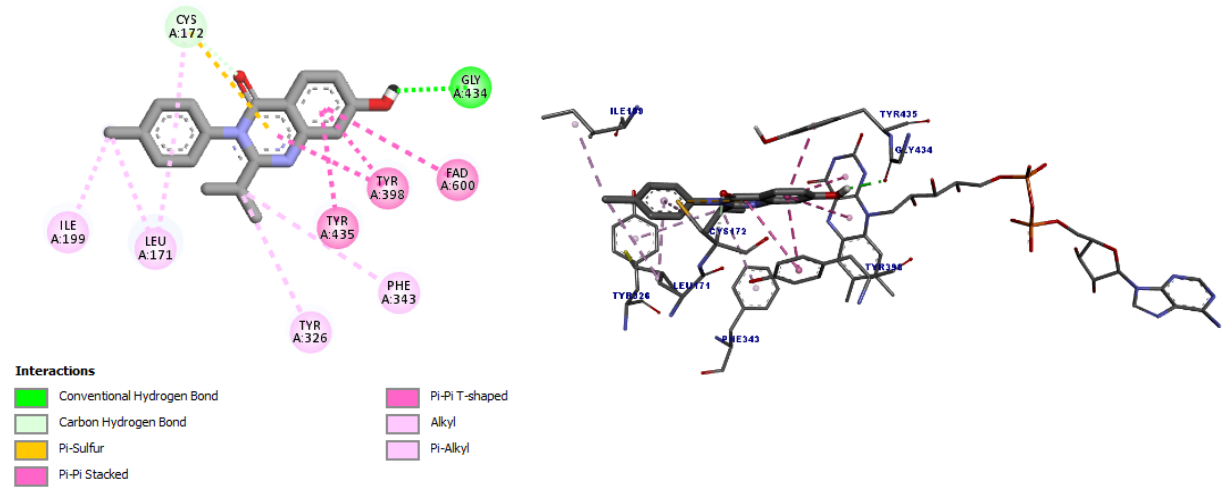


ZINC66054868

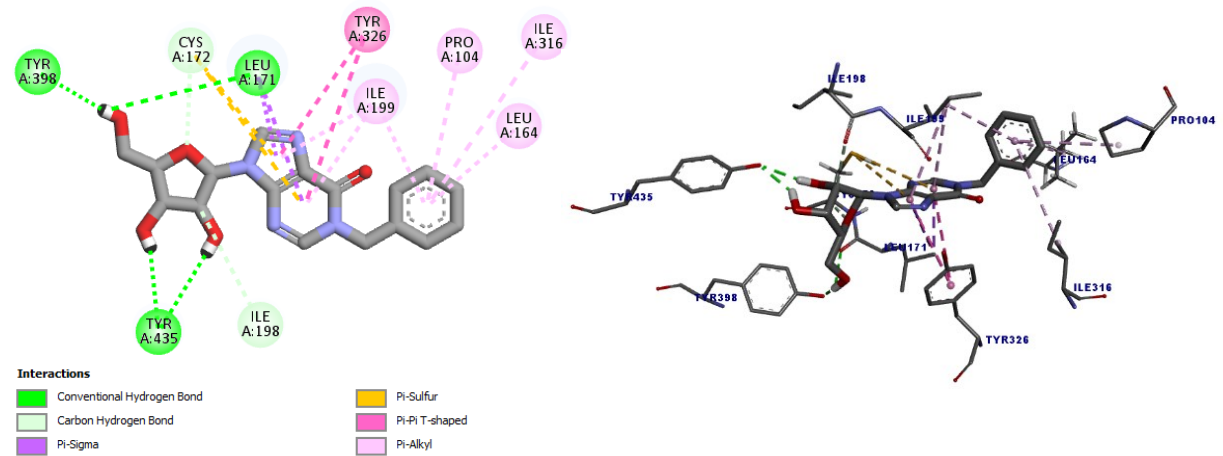


Continua ...

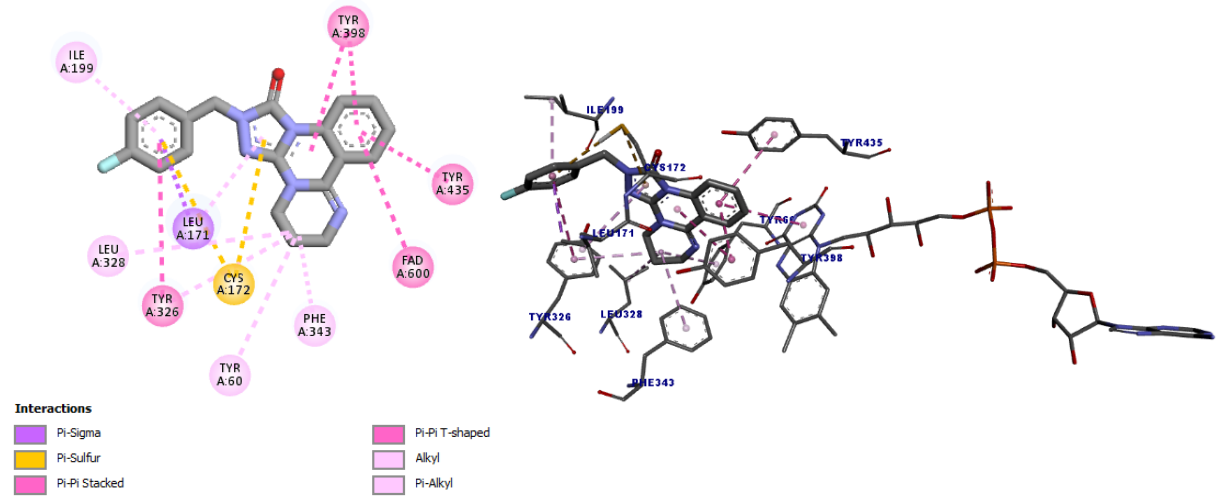
ZINC66054869



ZINC71769254

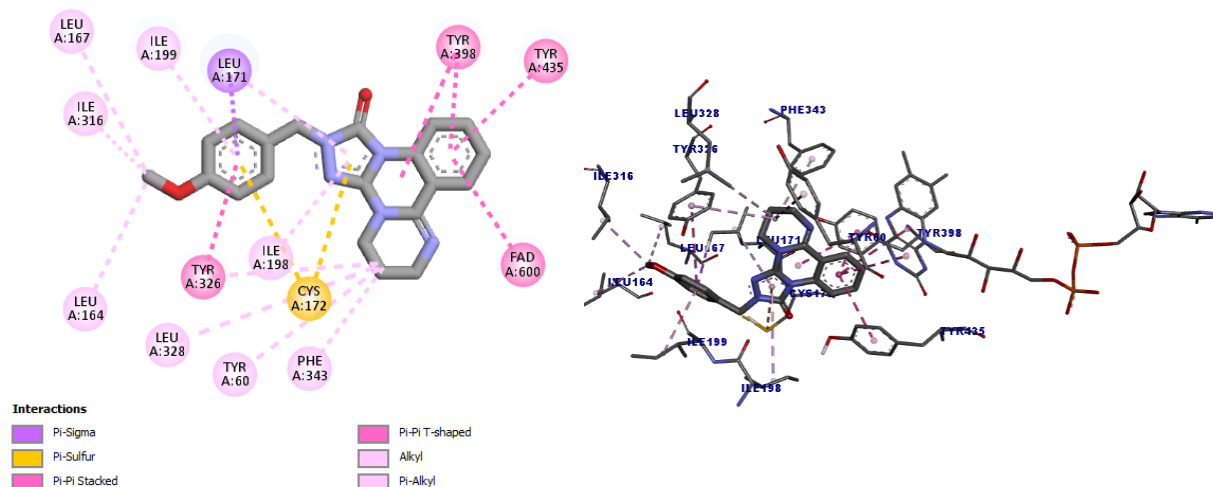


ZINC72342126

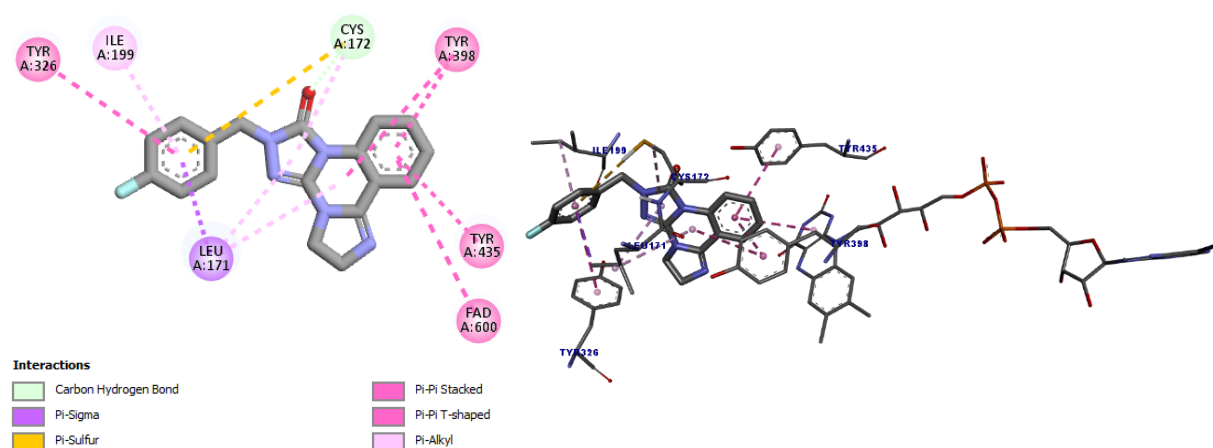


Continua ...

ZINC72342127



ZINC72348050



Fonte: Autoria própria

Turkmenoglu e colaboradores (2015), ao analisarem flavonoides extraídos de espécies do gênero *Sideristis*, pretendiam estabelecer o potencial atividade inibitória sobre as duas isoformas da MAO, tanto a MAO-A como a MAO-B. No estudo de *docking* com o flavonoide xantomicrol foi observado que dois grupos carbonil e dois hidroxil, interagiram os resíduos Cys172 e Tyr435. Além disso, este flavonoide interagiu também com os resíduos Ile198, Ile199, Cys172, Leu171, Tyr435, Tyr398, Tyr326 e Phe343. Outra substância analisada no estudo foi a salvigenina, em que foi visualizada uma interação entre o grupo carbonil do anel da cumarina e a Cys172. No bolso hidrofóbico, interagiu com os resíduos Phe168, Tyr60, Ile199, Tyr326, Cys172, Ile198, Phe343, Gln206 e Tyr398.

Em outro estudo, elaborado por Monteiro e colegas (2018), foi analisado potencial atividade de diferentes flavonoides como possíveis agentes terapêuticos para as doenças de Alzheimer e Parkinson com ação em diferentes receptores. Em se tratando da ação inibitória sobre a MAO-B, os autores estabeleceram que as todas as substâncias analisadas (3-O-metilquercetina, 8-prenilnaringenina, aspalatina, capensinidina, europidina, galato de epicatequina, hisperidina, homoeroidctiol, rosinidina e esterubina) interagiram com os resíduos Cys172, Tyr435, Leu171, Tyr326, Tyr60 e Gln206.

Chaurasiya et al. (2020) avaliaram a capacidade de interação de flavonoides O-metilados derivados de produtos naturais também para as duas isorformas da MAO, a partir de cinco espécies vegetais (*Senecio roseiflorus*, *Polygonum senegalense*, *Bhaphia macrocalyx*, *Gardenia ternifolia* e *Psiadia punctulata*). Dentre todos os compostos analisados, dois apresentaram maior potencial de inibir seletivamente a isoforma MAO-B no ensaio experimental, a partir da determinação do Ki (constante de inibição), que foram as substâncias de nome 8-demethylsideroxylin e 5,7-dihydroxy-2,3,4,5-tetramethoxyflavone. Para as duas moléculas, no estudo de *docking*, observou-se uma interação de hidrogênio entre o C-4 carbonil e a Cys172, enquanto que a hidroxila do C-5 apresentou interação, mediada por água, com Tyr188 e Gln206. O anel A ficou posicionado no bolso hidrofóbico da proteína, rodeado por vários resíduos, como Tyr60, Phe343, Tyr398 e Tyr435, e o anel B, cercado pelos resíduos Leu164, Leu167, Phe168, Ile199, Ile316 e Tyr326.

Corroborando os resultados obtidos na presente pesquisa com dados da literatura, foi possível estabelecer que a maioria das moléculas conseguiu interagir com o alvo e com aminoácidos importantes, deferindo potencial atividade com ação na enzima MAO-B.

4.4 PREDIÇÃO DE ATIVIDADE DOS MELHORES RESULTADOS: *SEA* E *PASS*

Conforme supracitado, a predição farmacocinética demonstrou, de uma perspectiva mais ampla, que as moléculas dos grupos dos alcaloides apresentaram respostas mais favoráveis quando comparados aos flavonoides, visto que muitas tiveram todos os parâmetros dentro dos valores de referência (berberina, coptsina, epiberberina, groenlandicina, ligustrazina e nicotina), enquanto que as do grupo dos flavonoides, nenhuma molécula apresentou todos os descritores positivos para essa análise. Após a triagem, as moléculas do grupo dos alcaloides permaneceram com respostas favoráveis, com exceção da molécula ZINC00338118, que

obteve resposta negativa tanto para SNC_A quanto logHERG. No que se refere às triadas do grupo dos flavonoides, os resultados foram mais promissores para a avaliação ADME quando comparado aos produtos naturais.

Em relação a avaliação toxicológica, os resultados apresentaram padrão semelhante ao do teste anterior, no qual os alcaloides mostraram menor potencial tóxico quando comparado aos flavonoides. Mas que após a triagem, obtiveram-se moléculas com menor potencial de causar algum efeito tóxico, demonstrando a importância da triagem e de como é possível conhecer outras estruturas com propriedades biológicas semelhantes ou até superiores.

O *docking* molecular demonstrou que muitas das moléculas, de todos os grupos, apresentaram potencial de interação e alta afinidade com o sítio ativo da MAO-B, interações estas com aminoácidos essenciais e que já foram descritos em outros estudos.

Analisando como um conjunto, algumas moléculas que se destacaram apresentaram resultados favoráveis em todos os testes. Do grupo dos alcaloides, a molécula palmatina apresentou bons parâmetros farmacocinéticos, com baixo potencial tóxico e interagiu fortemente ao alvo (21 interações) e com uma alta afinidade (score: 84,76). Após a triagem, a molécula que demonstrou potencial foi a ZINC00597214, também com respostas ADME/Tox favoráveis e boa interação com alvo.

Quanto ao grupo dos flavonoides, antes da triagem, a molécula genisteína se destacou, de uma maneira ampla, em relação às outras testadas, principalmente no que diz respeito ao *docking*. Após a triagem, a molécula ZINC72342127, foi a que obteve melhores resultados, quando analisada de uma perspectiva geral.

Diante disso, após definição dos melhores resultados, foi realizado a predição das atividades biológicas, através dos servidores online *PASS prediction* e *SEA prediction*. O *PASS prediction* tem como principal finalidade predizer os efeitos farmacológicos de diferentes moléculas, a partir da sua base estrutural ou molecular. O webservidor, por meio de uma série de dados matemáticos e estruturais, atribui a diferentes compostos variadas atividades e quantifica em valores prováveis, que são definidos pelo Pa (probabilidade de atividade) e Pi (probabilidade de inatividade). Caso o valor de Pa for > 0,7 a probabilidade de a substância exibir atividade experimental é alta, com chances elevadas de a substância ser um análogo a um agente farmacêutico já conhecido. Valores de Pa entre 0,5 e 0,7 indicam probabilidade menor, apesar de a possibilidade de a substância ser diferente de estruturas já conhecidas. Em situações

de o valor da P_a ser $< 0,5$, apresenta menor probabilidade de exibir atividade experimental (LAGUNIN et al., 2000).

O servidor disponibiliza ainda uma lista de atividades que podem ser previstas e informa a quantidade de compostos ativos detectados, além da fornecer a previsão da precisão invariante do cálculo. Para a atividade “inibidor da MAO-B”, o servidor consta um total de 672 compostos, com previsão de precisão no valor de 0,98. Já para a atividade “antiparkinsoniana”, consta um total de 2768 compostos, com 0,89 de precisão.

Neste estudo, duas das moléculas estudadas apresentaram resultados para atividade biológica (Tabela 14), no qual foram a genisteína (flavonoide) e a ZINC72342127, que foi a triada a partir do grupo dos flavonoides. É de importância ressaltar, que ambas apresentaram um valor de P_a superior à selegilina, indicando possuírem maior probabilidade de apresentar atividade inibitória sobre a MAO-B em relação à molécula de referência. Além disso, a genisteína, diferentemente da ZINC72342127, apresentou resultado para a atividade antiparkinsoniana.

No entanto, destaca-se que mesmo que as outras moléculas não tenham apresentado alguma atividade de interesse, não significa que devem ser descartadas para estudos futuros, uma vez que o não aparecimento de resultados pelo servidor pode ser em decorrência da falta de dados dessas estruturas no seu banco de dados frente à atividade desejada, que é a de inibição da MAO-B.

Quanto ao servidor SEA *prediction*, este baseia-se na ideia de compostos com estruturas químicas semelhantes, terão comportamentos e propriedades semelhantes, inclusive para interagir com determinados receptores ou grupo de proteínas (WANG et al., 2016). O programa emprega o coeficiente máximo de Tanimoto, em que os valores variam de 0 a 1, no qual quanto mais próximo ou igual a 1, maior a probabilidade de uma molécula se ligar ao alvo. É realizado, então, um comparativo entre diferentes moléculas disponíveis no banco de dados do próprio servidor, e ao inserir uma estrutura de interesse, é aplicado o cálculo para avaliação do potencial de interação, através da similaridade química e estrutural, funcionando como uma impressão digital molecular (WANG et al., 2016; RÁCZ; BAJUSZ; HÉBERGER, 2018).

Tabela 14 – Probabilidade de atividade e inatividade dos melhores resultados pelo programa *PASS prediction*

Moléculas	Pa	Pi	Atividade
Selegilina	0,366	0,004	Inibidor da MAO-B
	0,580	0,008	Antiparkinsoniano
Palmatina	-	-	-
Genisteína	0,615	0,003	Inibidor da MAO-B
	0,188	0,180	Antiparkinsoniano
ZINC00597214	-	-	-
ZINC72342127	0,651	0,005	Inibidor da MAO-B

Fonte: Autoria própria

Para a análise do potencial interação com o alvo MAO-B, através do servidor *SEA prediction*, nenhuma molécula, além da de referência, apresentou resultado para essa predição (Tabela 15).

Tabela 15 – Predição de atividade pelo servidor *SEA prediction* para avaliação de potencial interação alvo-ligante

Moléculas	MAX TC
Selegilina	1
Genisteína	-
Palmatina	-
ZINC00597214	-
ZINC72342127	-

Fonte: Autoria própria

É importante frisar, no entanto, que mesmo que as estruturas não tenham apresentado nenhum resultado para esse parâmetro, isso não exclui o potencial das mesmas de interagirem com a MAO-B experimentalmente, uma vez que, existe a possibilidade de o servidor não ter conseguido apresentar resultados por falta de dados de moléculas semelhantes às das inseridas no seu banco, para esse alvo em específico.

Em vista disso, portanto, para verificar se outros estudos estão sendo desenvolvidos para análise dessas moléculas com finalidade de ação inibitória sobre a MAO-B, para o tratamento da DP, foi realizada uma busca no banco de dados CDDI, que é uma plataforma que integra diversas áreas do conhecimento a respeito de diferentes moléculas, incluindo as de estruturas

similares ou análogos. De acordo com o referido banco, a palmatina está sendo estudada como um potencial agente inibitório da acetilcolinesterase, visando o tratamento da Doença de Alzheimer. Em relação ao flavonoide genisteína, diversos grupos de pesquisa estão realizando pesquisas com a substâncias para diversos fins, como agente anti-HIV, emprego para o tratamento de câncer de bexiga e de próstata, de doenças ósseas, endometriose, disfunção erétil, fibrose cística, endometriose, desordens ginecológicas, como agente imunomodulador, utilizado para terapia do melanoma, como droga oftálmica, tratamento em casos de envenenamento, radioprotetor e/ou radiomitigador e por fim, para casos de falência renal.

Do grupo das moléculas triadas, a de denominação ZINC00597214 está sendo estudada como candidato à fármaco para ser utilizada em casos de disfunção erétil, com ação semelhante ao Viagra®. Em relação ZINC72342127, de acordo com o CDDI, nenhum estudo referente à molécula e análogos está sendo desenvolvido.

CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS

Em decorrência da alta prevalência da DP, quando enquadrada dentro do conjunto de doenças neurodegenerativas, e por ser, até o momento sem cura, o estudo quanto ao desenvolvimento de fármacos que possam ser utilizados para o tratamento da condição é de suma importância, visando com isso, a qualidade de vida dos indivíduos que vivem com a doença. O emprego dos estudos *in silico* vêm auxiliando na descoberta e planejamento de fármacos, uma vez que possibilitam a análise de um amplo número de propostas em um tempo hábil.

Partindo desse princípio, ao submeter essas moléculas para diferentes análises, pôde-se depreender que muito dos resultados foram superiores ao da selegilina, demonstrando que os produtos naturais estudados, em especial a palmatina e genisteína, possuem potencial antiparkinsoniano, devido à capacidade em inibir a enzima MAO-B, de acordo com os resultados das predições. Além disso, a partir da triagem virtual, foi possível obter moléculas com propriedades semelhantes ou até mesmo, superiores, quando comparadas aos metabólitos já conhecidos, principalmente as moléculas ZINC00597214 e ZINC72342127.

Ressalta-se ainda que, o grupo dos alcaloides, principalmente na predição farmacocinética e toxicológica demonstraram ser superiores aos flavonoides e isto, pode ser atribuído de certa forma à presença do nitrogênio incorporado ao anel heterocíclico. É possível, inclusive, fazer esta constatação por meio dos resultados obtidos dos estudos das moléculas que foram obtidas a partir do modelo farmacofórico dos flavonoides, no qual todas possuem essa característica, e obtiveram um maior número de resultados dos parâmetros dentro dos valores de referência quando comparado ao grupo dos produtos naturais (flavonoides).

Portanto, pretende-se a partir da aplicação das predições computacionais, a continuidade dos estudos para melhor estabelecer as propriedades dessas moléculas, como simulações *in silico*, a exemplo de estudo de dinâmica molecular, ou até mesmo, testar *in vitro* e *in vivo*, a fim de possibilitar o desenvolvimento de um candidato a fármaco a ser incluindo como terapia para a Doença de Parkinson.

- AARSLAND, D. et al. Parkinson disease-associated cognitive impairment. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 7, n. 1, p. 1–21, 2021.
- ABBRUZZESE, G. et al. The current evidence for the use of safinamide for the treatment of parkinson's disease. **Drug Design, Development and Therapy**, v. 15, p. 2507–2517, 2021.
- AHMED, T. et al. Berberine and neurodegeneration: A review of literature. **Pharmacological Reports**, v. 67, n. 5, p. 970–979, 2015.
- AL-BAGHDADI, O. B. et al. Inhibition of monoamine oxidase by derivatives of piperine, an alkaloid from the pepper plant *Piper nigrum*, for possible use in Parkinson's disease. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 22, n. 23, p. 7183–7188, 2012.
- ALQAHTANI, M. S. et al. Advances in Oral Drug Delivery. **Frontiers in Pharmacology**, v. 12, n. 1, p. 1–21, 2021.
- ALQAHTANI, M. S. et al. Advances in Oral Drug Delivery. **Frontiers in Pharmacology**, v. 12, n. 1, p. 1–21, 2021.
- ANGELINO, D. et al. 5-(Hydroxyphenyl)- γ -valerolactone-sulfate, a key microbial metabolite of flavan-3-ols, is able to reach the brain: Evidence from different in silico, in vitro and in vivo experimental models. **Nutrients**, v. 11, n. 11, 2019.
- ANISZEWSKI, T. **Alkaloids Chemistry, Biology, Ecology, and Applications**. 1 ed. 2015.
- ANUSHA, C.; SUMATHI, T.; JOSEPH, L. D. Protective role of apigenin on rotenone induced rat model of Parkinson's disease: Suppression of neuroinflammation and oxidative stress mediated apoptosis. **Chemico-Biological Interactions**, v. 269, p. 67–79, 2017.
- APTULA, A. O.; ROBERTS, D. W. Mechanistic applicability domains for nonanimal-based prediction of toxicological end points: General principles and application to reactive toxicity. **Chemical Research in Toxicology**, v. 19, n. 8, p. 1097–1105, 2006.
- ARMSTRONG, M. J.; OKUN, M. S. Diagnosis and Treatment of Parkinson Disease: A Review. **JAMA - Journal of the American Medical Association**, v. 323, n. 6, p. 548–560, 2020.
- ARUNAN, E. et al. Definition of the hydrogen bond (IUPAC Recommendations 2011). **Pure and Applied Chemistry**, v. 83, n. 8, p. 1637–1641, 2011.
- BALESTRINO, R.; SCHAPIRA, A. H. V. Parkinson disease. **European Journal of Neurology**, v. 27, n. 1, p. 27–42, 2020.

BARRATT, MARTIN D.; BASKETTER, D. A. Possible origin of the skin sensitisation potential of isoeugenol and related compounds. **Contact dermatitis**, v. 27, n. I, p. 98–104, 1992.

BIE, R. M. A. et al. Initiation of pharmacological therapy in Parkinson's disease: when, why, and how. **The Lancet Neurology**, v. 19, n. 5, p. 452–461, 2020.

BRAAK, H. et al. Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. **Neurobiology of Aging**, v. 24, n. 2, p. 197–211, 2003.

BRIBI, N. Pharmacological activity of Alkaloids: A Review. **Asian Journal of Botany**, v. 1, n. April, p. 1–5, 2018.

BROGI, S. Computational approaches for drug discovery. **Molecules**, v. 24, n. 17, p. 1–6, 2019.

BRUNTON, L.; CHABNER, B.; KNOLLMANN, B. **As Bases Farmacológicas da Terapêutica de Goodman & Gilman**. 12 ed ed. [s.l: s.n.].

BUHMANN, D. W. C. et al. Role of dopamine agonists in Parkinson ' s disease therapy. **Journal of Neural Transmission**, v. 130, n. 6, p. 863–873, 2023.

CARBONE, F. et al. Apomorphine for Parkinson ' s Disease : Efficacy and Safety of Current and New Formulations. **CNS Drugs**, v. 33, n. 9, p. 905–918, 2019.

CARVALHO, I. et al. Introdução a modelagem molecular de fármacos no curso experimental de química farmacêutica. **Química Nova**, v. 26, n. 3, p. 428–438, 2003.

CAVALLI, A. et al. Toward a pharmacophore for drugs inducing the long QT syndrome: Insights from a CoMFA study of HERG K⁺ channel blockers. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, n. 18, p. 3844–3853, 2002.

CHAUURASIYA, N. D. et al. Selective Interactions of O -Methylated Flavonoid Natural Products with Human Monoamine Oxidase-A and -B. **Molecules**, v. 25, n. 5358, p. 1–14, 2020.

CHEN, T.; LI, M.; LIU, J. π - π Stacking Interaction: A Nondestructive and Facile Means in Material Engineering for Bioapplications. **Crystal Growth and Design**, v. 18, n. 5, p. 2765–2783, 2018.

CHENG, Y. et al. Neuroprotective effect of baicalein against MPTP neurotoxicity: Behavioral, biochemical and immunohistochemical profile. **Neuroscience Letters**, v. 441, n. 1, p. 16–20, 2008.

CLARKE, C. E. et al. Clinical effectiveness and cost-effectiveness of physiotherapy and occupational therapy versus no therapy in mild to moderate Parkinson's disease: a large pragmatic randomised controlled trial (PD REHAB). **Health technology assessment**, v. 20, n. 63, p. 1–95, 2016.

CROWLEY, E. K.; NOLAN, Y. M.; SULLIVAN, A. M. Exercise as a therapeutic

intervention for motor and non-motor symptoms in Parkinson's disease: Evidence from rodent models. **Progress in Neurobiology**, v. 172, p. 2–22, 2019.

DADGOSTAR, E. et al. Can Berberine Serve as a New Therapy for Parkinson's Disease? **Neurotoxicity Research**, v. 40, n. 4, p. 1096–1102, 2022.

DE COLIBUS, L. et al. Three-dimensional structure of human monoamine oxidase A (MAO A): Relation to the structures of rat MAO A and human MAO B. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 102, n. 36, p. 12684–12689, 2005.

DE SOUZA, J.; FREITAS, Z. M. F.; STORPIRTIS, S. In vitro models for the determination of drug absorption and a prediction of dissolution/absorption relationships. **Revista Brasileira de Ciencias Farmaceuticas/Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 43, n. 4, p. 515–527, 2007.

DEZSI, L.; VECSEI, L. Monoamine Oxidase B Inhibitors in Parkinson's Disease. **CNS & Neurological Disorders - Drug Targets**, v. 16, n. 4, p. 425–439, 2017.

DIAS, M. C.; PINTO, D. C. G. A.; SILVA, A. M. S. Plant flavonoids: Chemical characteristics and biological activity. **Molecules**, v. 26, n. 17, p. 1–16, 2021.

DICKSON, D. W. Neuropathology of Parkinson disease. **Parkinsonism and Related Disorders**, v. 46, p. S30–S33, 2018.

DING, X. et al. Differentiated Caco-2 cell models in food-intestine interaction study: Current applications and future trends. **Trends in Food Science and Technology**, v. 107, n. May 2020, p. 455–465, 2021.

DOTY, R. L. Olfactory dysfunction in Parkinson disease. **Nature Reviews Neurology**, v. 8, n. 6, p. 329–339, 2012.

DUARTE SILVA, I. et al. Chemical features of flavonols affecting their genotoxicity. Potential implications in their use as therapeutical agents. **Chemico-Biological Interactions**, v. 124, n. 1, p. 29–51, 2000.

EKINS, S. et al. Three-dimensional quantitative structure-activity relationship for inhibition of human ether-a-go-go-related gene potassium channel. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 301, n. 2, p. 427–434, 2002.

ELKOUZI, A. et al. Emerging therapies in Parkinson disease — repurposed drugs and new approaches. **Nature Reviews Neurology**, v. 15, n. 4, p. 204–223, 2019.

ERRO, R.; BHATIA, K. P.; TINAZZI, M. Parkinsonism following neuroleptic exposure: A double-hit hypothesis? **Movement Disorders**, v. 30, n. 6, p. 780–785, 2015.

FAN, H. et al. Hyperoside Reduces Rotenone-induced Neuronal Injury by Suppressing Autophagy. **Neurochemical Research**, v. 46, n. 12, p. 3149–3158, 2021.

FILIMONOV, D. A. et al. Prediction of the biological activity spectra of organic compounds

using the pass online web resource. **Chemistry of Heterocyclic Compounds**, v. 50, n. 3, p. 444–457, 2014.

FRIEDEMANN, T. et al. Neuroprotective Activity of Coptisine from *Coptis chinensis* (Franch). **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2015, 2015.

FRIEDEMANN, T. et al. Neuroprotective Effect of *Coptis chinensis* in MPP + and MPTP-Induced Parkinson's Disease Models. **American Journal of Chinese Medicine**, v. 44, n. 5, p. 907–925, 2016.

GARRIDO, A. et al. hERG toxicity assessment: Useful guidelines for drug design. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 195, p. 112290, 2020.

GERBERICK, G. F. et al. Compilation of historical local lymph node data for evaluation of skin sensitization alternative methods. **Dermatitis**, v. 16, n. 4, p. 157–202, 2005.

GHANNAY, S.; KADRI, A.; AOUADI, K. Synthesis, in vitro antimicrobial assessment, and computational investigation of pharmacokinetic and bioactivity properties of novel trifluoromethylated compounds using in silico ADME and toxicity prediction tools. **Monatshefte fur Chemie**, v. 151, n. 2, p. 267–280, 2020.

GIORDANO, D. et al. Drug Design by Pharmacophore and Virtual Screening Approach. **Pharmaceuticals**, v. 15, n. 5, p. 1–16, 2022.

GOEL, R.; CHAUDHARY, R. Effect of daidzein on parkinson disease induced by reserpine in rats. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 56, p. 1–7, 2020.

GOETZ, C. G. et al. Movement Disorder Society-Sponsored Revision of the Unified Parkinson's Disease Rating Scale (MDS-UPDRS): Scale Presentation and Clinimetric Testing Results. **Movement disorders**, v. 23, n. 15, p. 2129–2170, 2008.

GREENE, N. et al. Knowledge-based expert systems for toxicity and metabolism prediction: DEREK, StAR and METEOR. **SAR and QSAR in environmental research**, v. 10, n. 2–3, p. 299–314, 1999.

GREENE, N. Computer systems for the prediction of toxicity: An update. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 54, n. 3, p. 417–431, 2002.

GUO, C. et al. Discovery of aryloxy tetramethylcyclobutanes as novel androgen receptor antagonists. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 54, n. 21, p. 7693–7704, 2011.

GUTOWSKA, I.; MACHOY, Z.; MACHALIŃSKI, B. The role of bivalent metals in hydroxyapatite structures as revealed by molecular modeling with the HyperChem software. **Journal of Biomedical Materials Research - Part A**, v. 75, n. 4, p. 788–793, 2005.

HAGE-MELIM, L. I. DA S. et al. The Impact of Natural Compounds on the Treatment of Neurodegenerative Diseases. **Current Organic Chemistry**, v. 23, n. 3, p. 335–360, 2019.

HALEAGRAHARA, N. et al. Neuroprotective effect of bioflavonoid quercetin in 6-hydroxydopamine-induced oxidative stress biomarkers in the rat striatum. **Neuroscience**

Letters, v. 500, n. 2, p. 139–143, 2011.

HAMANN, L. G. et al. Tandem optimization of target activity and elimination of mutagenic potential in a potent series of N-aryl bicyclic hydantoin-based selective androgen receptor modulators. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 17, n. 7, p. 1860–1864, 2007.

HEVENER, K. E. et al. Validation of Molecular Docking Programs for Virtual Screening against Dihydropteroate Synthase. **J Chem Inf Model**, v. 49, n. 2, p. 444–460, 2009.

HU, Q. et al. Baicalein inhibits α -synuclein oligomer formation and prevents progression of α -synuclein accumulation in a rotenone mouse model of Parkinson's disease. **Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease**, v. 1862, n. 10, p. 1883–1890, 2016.

IOVINO, L.; TREMBLAY, M. E.; CIVIERO, L. Glutamate-induced excitotoxicity in Parkinson's disease: The role of glial cells. **Journal of Pharmacological Sciences**, v. 144, n. 3, p. 151–164, 2020.

JAMIESON, C. et al. Medicinal Chemistry of hERG Optimizations: Highlights and Hang-Ups. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 49, n. 17, p. 12–14, 2006.

JUDSON, P. N.; STALFORD, S. A.; VESSEY, J. Assessing confidence in predictions made by knowledge-based systems. **Toxicology Research**, v. 2, n. 1, p. 70–79, 2013.

JUNG, U. J.; KIM, S. R. Effects of naringin, A flavanone glycoside in grapefruits and citrus fruits, On the nigrostriatal dopaminergic projection in the adult brain. **Neural Regeneration Research**, v. 9, n. 16, p. 1514–1517, 2014.

JUNG, U. J.; KIM, S. R. Beneficial Effects of Flavonoids Against Parkinson's Disease. **Journal of Medicinal Food**, v. 21, n. 5, p. 421–432, 2018.

KALIA, L. V.; LANG, A. E. Parkinson's disease. **The Lancet**, v. 386, n. 9996, p. 896–912, 2015.

KALYANARAMAN, B.; FELIX, C. C.; SEALY, R. C. Semiquinone anion radicals of catechol(amine)s, catechol estrogens, and their metal ion complexes. **Environmental Health Perspectives**, v. VOL. 64, n. 50, p. 185–198, 1985.

KIM, H. D. et al. Naringin treatment induces neuroprotective effects in a mouse model of Parkinson's disease in vivo, but not enough to restore the lesioned dopaminergic system. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 28, p. 140–146, 2016.

KIM, M. et al. Berberine prevents nigrostriatal dopaminergic neuronal loss and suppresses hippocampal apoptosis in mice with Parkinson's disease. **International Journal of Molecular Medicine**, v. 33, n. 4, p. 870–878, 2014.

KISHIMOTO, S. et al. Evaluation of biosynthetic pathway and engineered biosynthesis of alkaloids. **Molecules**, v. 21, n. 8, 2016.

KLIETZ, M. et al. Safety and Tolerability of Pharmacotherapies for Parkinson's Disease in Geriatric Patients. **Drugs & Aging**, 2019.

KOES, D. R.; CAMACHO, C. J. ZINCPharmer: Pharmacophore search of the ZINC database. **Nucleic Acids Research**, v. 40, n. W1, p. 409–414, 2012.

KUKULA-KOCH, W. A.; WIDELSKI, J. **Alkaloids**. [s.l.] Elsevier Inc., 2017.

LAGUNIN, A. et al. PASS: Prediction of activity spectra for biologically active substances. **Bioinformatics**, v. 16, n. 8, p. 747–748, 2000.

LEACH, A. R. et al. Three-dimensional pharmacophore methods in drug discovery. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 53, n. 2, p. 539–558, 2010.

LI, X.-M.; ZHAG, X.-J.; DONG, M.-X. Isorhynchophylline Attenuates MPP + -Induced Apoptosis Through Endoplasmic Reticulum Stress- and Mitochondria-Dependent Pathways in PC12 Cells : Involvement of Antioxidant Activity. **NeuroMolecular Medicine**, 2017.

LIU, L. X. et al. Neuroprotective effects of genistein on dopaminergic neurons in the mice model of Parkinson's disease. **Neuroscience Research**, v. 60, n. 2, p. 156–161, 2008.

LOPACHIN, R. M.; GAVIN, T. Molecular mechanisms of aldehyde toxicity: A chemical perspective. **Chemical Research in Toxicology**, v. 27, n. 7, p. 1081–1091, 2014.

LÓPEZ-CAMACHO, E. et al. A new multi-objective approach for molecular docking based on rmsd and binding energy. **Lecture Notes in Computer Science (including subseries Lecture Notes in Artificial Intelligence and Lecture Notes in Bioinformatics)**, v. 9702, p. 65–77, 2016.

LU, C. et al. Neuroprotective effects of tetramethylpyrazine against dopaminergic neuron injury in a rat model of parkinson's disease induced by MPTP. **International Journal of Biological Sciences**, v. 10, n. 4, p. 350–357, 2014.

LU, J. et al. Isorhynchophylline, a natural alkaloid, promotes the degradation of alpha-synuclein in neuronal cells via inducing autophagy. **Autophagy**, v. 8627, 2012.

MA, C. et al. Nicotine from cigarette smoking and diet and Parkinson disease: A review. **Translational Neurodegeneration**, v. 6, n. 1, p. 1–7, 2017.

MAO, Q. et al. Recent advances in dopaminergic strategies for the treatment of Parkinson's disease. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 41, n. 4, p. 471–482, 2020.

MARCHANT, C. A. Prediction of rodent carcinogenicity using the DEREK system for 30 chemicals currently being tested by the National Toxicology Program. **Environmental Health Perspectives**, v. 104, n. SUPPL. 5, p. 1065–1073, 1996.

MARINO, B. L. B. et al. Parkinson's disease: a review from pathophysiology to treatment. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 20, n. 9, p. 754–767, 2020.

MEDER, D. et al. The role of dopamine in the brains - lessons learned from Parkinson's disease. **Neuroimage**, v. 190, p. 79–93, 2019.

MELLADO, M. et al. Design, Synthesis and Docking Calculations of Prenylated Chalcones

as Selective Monoamine Oxidase B Inhibitors with Antioxidant Activity. **ChemistrySelect**, v. 4, n. 26, p. 7698–7703, 2019.

MO, J. et al. L-Stepholidine reduced L-DOPA-induced dyskinesia in 6-OHDA-lesioned rat model of Parkinson's disease. **Neurobiology of Aging**, v. 31, n. 6, p. 926–936, 2010.

MOHAMMED, A. S. et al. Drug metabolism and pharmacokinetics, the blood-brain barrier, and central nervous system drug discovery. **NeuroRx**, v. 2, n. 4, p. 554–571, 2005.

MONTEIRO, A. F. M. et al. Computational studies applied to flavonoids against Alzheimer's and Parkinson's diseases. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2018, 2018.

MOORE, J. J.; SAADABADI, A. **Selegiline**. 2023.

MORRIS, G. M.; LIM-WILLBBY, M. Molecular Docking. **Molecular Modeling of Proteins**, p. 365–382, 2008.

MU, X. et al. Baicalein exerts neuroprotective effects in 6-hydroxydopamine-induced experimental parkinsonism in vivo and in vitro. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 92, n. 4, p. 642–648, 2009.

MULLINER, D.; SCHÜÜRMANN, G. Model suite for predicting the aquatic toxicity of α,β -unsaturated esters triggered by their chemoavailability. **Molecular Informatics**, v. 32, n. 1, p. 98–107, 2013.

NABAVI, S. F. et al. Apigenin as neuroprotective agent: Of mice and men. **Pharmacological Research**, v. 128, p. 359–365, 2018.

NAIDOO, D. et al. New role for crinamine as a potent, safe and selective inhibitor of human monoamine oxidase B: In vitro and in silico pharmacology and modeling. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 248, n. October 2019, p. 112305, 2020.

NAZ, F. et al. Bromocriptine therapy: Review of mechanism of action, safety and tolerability. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 49, n. 8, p. 903–922, 2022.

NCBI. INFORMATION, N. C. FOR B. **Catechol**. 2023.

NTIE-KANG, F. An in silico evaluation of the ADMET profile of the StreptomeDB database. **SpringerPlus**, v. 2, n. 1, p. 1–11, 2013.

OCH, A.; PODGÓRSKI, R.; NOWAK, R. Biological Activity of Berberine—A Summary Update. **Toxins**, v. 12, n. 11, p. 1–26, 2020.

OLIVEIRA, N. K. S. DE et al. Antioxidant effect of flavonoids present in Euterpe oleraceae Martius and Neurodegenerative diseases: A literature review. **Central Nervous System Agents in Medicinal Chemistry**, v. 19, p. 75–79, 2019.

OTHMAN, A. et al. Possible neuroprotective effects of amide alkaloids from *Bassia indica* and *Agathophora alopecuroides*: in vitro and in silico investigations. **RSC Advances**, v. 12, n. 29, p. 18746–18758, 2022.

PANCHE, A. N.; DIWAN, A. D.; CHANDRA, S. R. Flavonoids: An overview. **Journal of Nutritional Science**, v. 5, 2016.

PARDRIDGE, W. M. Drug transport across the blood-brain barrier. **Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism**, v. 32, n. 11, p. 1959–1972, 2012.

PEARLSTEIN, R. A. et al. Characterization of HERG potassium channel inhibition using CoMSiA 3D QSAR and homology modeling approaches. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 13, n. 10, p. 1829–1835, 2003.

PRITHVIRAJ KARAK. Biological Activities of Flavonoids: an Overview. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research** , v. 10, n. 4, p. 1567–1574, 2019.

QUEVEDO, C. V. Triagem Virtual Em Banco De Dados De Ligantes Considerando Propriedades Físico-Químicas De Um Modelo De Receptor Totalmente Flexível. 2016.

RABIEI, Z.; SOLATI, K.; AMINI-KHOEI, H. Phytotherapy in treatment of Parkinson's disease: a review. **Pharmaceutical Biology**, v. 57, n. 1, p. 355–362, 2019.

RÁCZ, A.; BAJUSZ, D.; HÉBERGER, K. Life beyond the Tanimoto coefficient: Similarity measures for interaction fingerprints. **Journal of Cheminformatics**, v. 10, n. 1, p. 1–12, 2018.

RAHMAN, M. M. et al. Multifunctional role of natural products for the treatment of Parkinson's disease: At a glance. **Frontiers in Pharmacology**, v. 13, n. October, p. 1–23, 2022.

RASCHI, E. et al. The hERG K⁺ channel: target and antitarget strategies in drug development. **Pharmacological Research**, v. 57, n. 3, p. 181–195, 2008.

RAY CHAUDHURI, K.; POEWE, W.; BROOKS, D. Motor and Nonmotor Complications of Levodopa: Phenomenology, Risk Factors, and Imaging Features. **Movement Disorders**, v. 33, n. 6, p. 909–919, 2018.

RENATA, P. et al. Exposição a agrotóxicos na agricultura e doença de Parkinson em usuários de um serviço público de saúde do Paraná , Brasil. **Cadernos Saúde Coletiva**, v. 28, n. 4, p. 567–578, 2020.

RESENDE, F. A. et al. Mutagenicity of flavonoids assayed by bacterial reverse mutation (Ames) test. **Molecules**, v. 17, n. 5, p. 5255–5268, 2012.

RIDINGS, J. E. et al. Computer prediction of possible toxic action from chemical structure: An update on the DEREK system. **Toxicology**, v. 106, n. 1–3, p. 267–279, 1996.

ROY, A. A review on the alkaloids an important therapeutic compound from plants Remediation of environmental contamination View project Micropropagation of Centella asiatica View project. **International Journal of plant Biotechnology**, v. 3, n. 2, p. 1–9, 2017.

SABE, V. T. et al. Current trends in computer aided drug design and a highlight of drugs

discovered via computational techniques: A review. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 224, p. 113705, 2021.

SANGUINETTI, M. C.; TRISTANI-FIROUZI, M. hERG potassium channels and cardiac arrhythmia. **Insight review**, v. 440, n. 23, p. 463–469, 2006.

SCHALLER, D. et al. Next generation 3D pharmacophore modeling. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science**, v. 10, n. 4, p. 1–20, 2020.

SCHAPIRA, A. H. V.; CHAUDHURI, K. R.; JENNER, P. Non-motor features of Parkinson disease. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 18, n. 7, p. 435–450, 2017.

SCHLÄGER, S.; DRÄGER, B. Exploiting plant alkaloids. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 37, p. 155–164, 2016.

SCHNEIDMAN-DUHOVNY, D. et al. PharmaGist: a webserver for ligand-based pharmacophore detection. **Nucleic acids research**, v. 36, n. Web Server issue, p. 223–228, 2008.

SCHRAG, A. Entacapone in the treatment of Parkinson's disease. **Lancet Neurology**, v. 4, n. 6, p. 366–370, 2005.

SCHRÖDINGER. QikProp, version 4.4. **Schrodinger press**, p. 1–45, 2021.

SHI, X. R. et al. Neuroprotective effects of SCM198 on 6-hydroxydopamine-induced behavioral deficit in rats and cytotoxicity in neuronal SH-SY5Y cells. **Neurochemistry International**, v. 58, n. 8, p. 851–860, 2011.

SHULER, L.; HICKMAN, J. J. TEER measurement techniques for in vitro barrier model systems. **J Lab Autom.**, v. 20, n. 2, p. 107–126, 2016.

SILVA, A. B. G. et al. Doença De Parkinson : revisão de literatura. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 5, p. 47677–47698, 2021.

SIMON, D. K.; TANNER, C. M.; BRUNDIN, P. Parkinson Disease Epidemiology, Pathology, Genetics, and Pathophysiology. **Clinics in Geriatric Medicine**, v. 36, n. 1, p. 1–12, 2020.

SINGH, A. et al. Promising Polyphenols in Parkinson's Disease Therapeutics. **Neurochemical Research**, v. 45, n. 8, p. 1731–1745, 2020.

SINGH, G. et al. Recent updates on structural insights of MAO - B inhibitors : a review on target - based approach. **Molecular Diversity**, 2023.

SNYDER, R. D.; GILLIES, P. J. Evaluation of the clastogenic, DNA intercalative, and topoisomerase II-interactive properties of bioflavonoids in Chinese hamster V79 cells. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v. 40, n. 4, p. 266–276, 2002.

SONG, D.; HAO, J.; FAN, D. Biological properties and clinical applications of berberine. **Frontiers of Medicine**, v. 14, n. 5, p. 564–582, 2020.

SOWNDHARARAJAN, K. et al. Baicalein as a potent neuroprotective agent: A review. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 95, n. August, p. 1021–1032, 2017.

TÁBI, T. et al. Selegiline: a molecule with innovative potential. **Journal of Neural Transmission**, v. 127, n. 5, p. 831–842, 2020.

TAN, Y. Y.; JENNER, P.; CHEN, S. DI. Monoamine Oxidase-B Inhibitors for the Treatment of Parkinson's Disease: Past, Present, and Future. **Journal of Parkinson's Disease**, v. 12, n. 2, p. 477–493, 2022.

TAYLOR, P. et al. Molecular Dynamics , Flexible Docking , Virtual Screening , ADMET Predictions , and Molecular Interaction Field Studies to Design Novel Potential MAO-B Inhibitors. **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics**, n. April 2013, p. 37–41, 2012.

TEIVE, H. A. Etiopatogenia da Doença de Parkinson. **Revista Neurociências**, v. 13, n. 4, p. 201–214, 2019.

TOLOSA, E. et al. Challenges in the diagnosis of Parkinson's disease. **The Lancet Neurology**, v. 20, n. 5, p. 385–397, 2021.

TORTI, M. et al. Are All Dopamine Agonists Essentially the Same ? **Drugs**, 2019.

TRAVAGLI, R. A.; BROWNING, K. N.; CAMILLERI, M. Parkinson disease and the gut: new insights into pathogenesis and clinical relevance. **Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology**, v. 17, n. 11, p. 673–685, 2020.

TURKMENOGLU, F. P. et al. Flavonoids from sideritis species: Human monoamine oxidase (hMAO) inhibitory activities, molecular docking studies and crystal structure of xanthomicrol. **Molecules**, v. 20, n. 5, p. 7454–7473, 2015.

TUVI-ARAD, I. Computational Chemistry in the Undergraduate Classroom – Pedagogical Considerations and Teaching Challenges. **Israel Journal of Chemistry**, v. 62, n. 1–2, p. 1–9, 2022.

ULLAH, A. et al. Important Flavonoids and Their Role as a Therapeutic Agent. **Molecules**, v. 25, p. 1–39, 2020.

VIJAYAKUMAR, S. et al. Review on potential phytochemicals in drug development for Parkinson disease: A pharmacoinformatic approach. **Informatics in Medicine Unlocked**, v. 5, n. September, p. 15–25, 2016.

VINA, D. et al. Herbal Natural Products As a Source of Monoamine Oxidase Inhibitors: A Review. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 12, n. 20, p. 2131–2144, 2013.

VIÑA, D. et al. 8-Substituted 3-Arylcoumarins as Potent and Selective MAO-B Inhibitors: Synthesis, Pharmacological Evaluation, and Docking Studies. **ChemMedChem**, v. 7, n. 3, p. 464–470, 2012.

VOLPE, D. A. Variability in Caco-2 and MDCK Cell-Based Intestinal Permeability Assays.

Journal of pharmaceutical sciences, v. 97, n. 2, p. 712–725, 2008.

VOLPE, D. A. Drug-permeability and transporter assays in Caco-2 and MDCK cell lines. **Future Medicinal Chemistry**, v. 3, n. 16, p. 2063–2077, 2011.

VRBANAC, J.; SLAUTER, R. **ADME in Drug Discovery**. Second Edi ed. [s.l.] Elsevier Inc., 2016.

WANG, K. et al. Efficacy and safety of selegiline for the treatment of Parkinson's disease: A systematic review and meta-analysis. **Frontiers in Aging Neuroscience**, v. 15, 2023.

WANG, Y. et al. In silico ADME/T modelling for rational drug design. **Quarterly Reviews of Biophysics**, v. 48, n. 4, p. 488–515, 2015.

WANG, Z. et al. Improving chemical similarity ensemble approach in target prediction. **Journal of Cheminformatics**, v. 8, n. 1, p. 1–10, 2016.

WHITCUP, S. M. et al. Retinal toxicity in human immunodeficiency virus-infected children treated with 2',3'-dideoxyinosine. **American Journal of Ophthalmology**, v. 113, n. 1, p. 1–7, 1992.

WILSON, S. M. et al. Classics in chemical neuroscience: Pramipexole. **ACS Chemical Neuroscience**, v. 11, n. 17, p. 2506–2512, 2020.

WINIWARTER, S. et al. In silico ADME in drug design - Enhancing the impact. **ADMET and DMPK**, v. 6, n. 1, p. 15–33, 2018.

WU, H. C. et al. Neuroprotective effects of genistein on SH-SY5Y cells overexpressing A53T mutant α -synuclein. **Neural Regeneration Research**, v. 13, n. 8, p. 1375–1383, 2018.

XU, S. et al. Hyperoside: A Review of Its Structure, Synthesis, Pharmacology, Pharmacokinetics and Toxicity. **Molecules**, v. 27, n. 9, 2022.

XU, X. J. et al. Neuroprotective effect of hyperoside in MPP+/MPTP -induced dopaminergic neurodegeneration. **Metabolic Brain Disease**, v. 38, n. 3, p. 1035–1050, 2023.

YANG, K.; JIN, G.; WU, J. The Neuropharmacology of (-)-Stepholidine and its Potential Applications. **Current Neuropharmacology**, v. 5, n. 4, p. 289–294, 2007.

YANG, S. Y. Pharmacophore modeling and applications in drug discovery: Challenges and recent advances. **Drug Discovery Today**, v. 15, n. 11–12, p. 444–450, 2010.

ZAHOOR, I.; SHAFI, A.; HAQ, E. **Pharmacological Treatment of Parkinson's Disease**. , 2018.

ZESIEWICZ, T. A. Parkinson disease. **Preoperative Assessment: A Case-Based Approach**, n. August, p. 227–231, 2021.

ZHANG, H. et al. Recent advances in discovery and development of natural products as source for anti-Parkinson's disease lead compounds. **European Journal of Medicinal**

Chemistry, v. 141, p. 257–272, 2017.

ZHANG, Z. J. et al. Quercetin exerts a neuroprotective effect through inhibition of the iNOS/NO system and pro-inflammation gene expression in PC12 cells and in zebrafish. **International Journal of Molecular Medicine**, v. 27, n. 2, p. 195–203, 2011.

ZHI, K. K. et al. Desmodeganine, a new alkaloid from the leaves of *Desmodium elegans* as a potential monoamine oxidase inhibitor. **Fitoterapia**, v. 98, p. 160–165, 2014.

ZHOU, J.; ZHOU, S. Fitoterapia Isorhynchophylline : A plant alkaloid with therapeutic potential for cardiovascular and central nervous system diseases. **Fitoterapia**, v. 83, n. 4, p. 617–626, 2012.

ZHU, G. et al. Neuroprotective effects of puerarin on 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine induced Parkinson's Disease Model in Mice. **Phytotherapy Research**, v. 28, n. 2, p. 179–186, 2014.

ZHU, J.; CHEN, M. The effect and safety of ropinirole in the treatment of Parkinson disease. p. 1–7, 2021.

ZOU, J. et al. Recent progress in the structural modification and pharmacological activities of ligustrazine derivatives. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 147, p. 150–162, 2018.