

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO PIAUÍ

CENTRO DE CIÊNCIAS DA NATUREZA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**ANÁLISE DOS COMPOSTOS MAJORITÁRIOS
DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE AROEIRA
(*SCHINUS TEREBINTHIFOLIUS* RADDI) PARA O
TRATAMENTO DA TENDINITE: IDENTIFICAÇÃO
FITOQUÍMICA E UM ESTUDO *IN SILICO*.**

WESLEY DE SOUSA SANTOS

ORIENTADOR(A): PROF. DR. RICARDO MARTINS RAMOS

Co-ORIENTADOR(A): PROF. DR. ANTÔNIO LUÍS MARTINS MAIA FILHO

Teresina – PI
2023

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO PIAUÍ

CENTRO DE CIÊNCIAS DA NATUREZA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**ANÁLISE DOS COMPOSTOS MAJORITÁRIOS
DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE AROEIRA
(*SCHINUS TEREBINTHIFOLIUS* RADDI) PARA O
TRATAMENTO DA TENDINITE: IDENTIFICAÇÃO
FITOQUÍMICA E UM ESTUDO *IN SILICO*.**

WESLEY DE SOUSA SANTOS

Dissertação/Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Estadual do Piauí, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre/Doutor em Química – Área de concentração: Bioprospecção de Produtos Naturais
Orientador(a): Prof(a). Dr(a). Ricardo Martins Ramos

Teresina – PI

2023

S237a Santos, Wesley de Sousa.
Análise dos compostos majoritários do óleo essencial das folhas de aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) para o tratamento da tendinite: identificação fitoquímica e um estudo *in silico* / Wesley de Sousa. – 2023.
78 f. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual do Piauí – UESPI, Programa de Pós-Graduação em Química, *Campus* Poeta Torquato Neto, Teresina-PI, 2023.
“Área de Concentração: Bioprospecção de Produtos Naturais.”
“Orientador Prof. Dr. Ricardo Martins Ramos.”

1. Tendinite. 2. Aroeira. 3. Admet. 4. Ancoramento Molecular.
I. Título.

CDD: 540.07


**ANÁLISE DOS COMPOSTOS MAJORITÁRIOS DO ÓLEO
ESSENCIAL DAS FOLHAS DE AROEIRA (*SCHINUS
TEREBINTHIFOLIUS* RADDI) PARA O TRATAMENTO DA
TENDINITE: IDENTIFICAÇÃO FITOQUÍMICA E UM ESTUDO *IN
SILICO*.**

WESLEY DE SOUSA SANTOS


Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Estadual do Piauí, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Química – Área de concentração: Bioprospecção de Produtos Naturais

Aprovado em 18 de dezembro de 2023.

Membros da Banca:

Documento assinado digitalmente
 **RICARDO MARTINS RAMOS**
Data: 10/01/2024 19:11:18-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>


Prof(a). Dr(a). Ricardo Martins Ramos

Documento assinado digitalmente
 **ANTONIO LUIZ MARTINS MAIA FILHO**
Data: 15/01/2024 08:16:35-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Prof(a). Dr(a). Antonio Luis Martins Maia Filho
(Co-Orientador Membro Titular – UESPI)



Profa. Dra. Rosa Virginia Soares Mamede
(Membro Titular – UESPI)

Documento assinado digitalmente
 **JOSE WALKIMAR DE MESQUITA CARNEIRO**
Data: 12/01/2024 09:38:11-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Prof(a). Dr José Walkimar de Mesquita Carneiro
(Membro Titular – PPGQ UESPI / UFF)

Teresina – PI

2023

Dedicatória

Dedico a todos que me ajudaram nesse trabalho, a minha família e amigos!!!!

AGRADECIMENTOS

- ❖ Ao meu orientador Dr. Ricardo Martins Ramos, meu coorientador Dr Antonio Luis Martins Maia Filho pelos ensinamentos, pelo tempo e paciência no desenvolvimento desta dissertação.
- ❖ Aos colegas do mestrado, em especial, ao grupo das “atividades” Maria das Dores Barreto, Rosemarie Marques e Neirigelson Leite pelo compartilhamento de ideias e auxílios durante as disciplinas e desenvolvimento das atividades.
- ❖ Aos professores do Mestrado em Química, pelo compartilhamento de seus conhecimentos nas disciplinas que cursei.
- ❖ Ao Programa de Pós-Graduação em Química-PPGQ e à Universidade Estadual do Piauí pela disponibilidade de ferramentas necessárias para o desenvolvimento desta dissertação.

Epígrafe

*“A mente que se abre a uma nova ideia jamais
voltará ao seu tamanho original.”*

(Albert Einstein)

RESUMO

SANTOS, W. S. **ANÁLISE DOS COMPOSTOS MAJORITÁRIOS DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE AROEIRA (*SCHINUS TEREBINTHIFOLIUS* RADDI) PARA O TRATAMENTO DA TENDINITE: IDENTIFICAÇÃO FITOQUÍMICA E UM ESTUDO *IN SILICO***.2023. 81 p. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Estadual do Piauí. Teresina.

A tendinite é um processo inflamatório que ocorre em um tendão, o processo inflamatório é uma resposta de proteção do corpo, que provoca um aumento na produção de prostaglandinas sintetizadas pelas enzimas Ciclooxygenases 1 e 2, e os anti-inflamatórios atuam inibindo tais enzimas. Na busca de novos fármacos para o tratamento dos mais diversos tipos de enfermidades, o uso de plantas medicinais possui tradição na medicina popular em todo o mundo, utilizamos a *Schinus terebinthifolius* Raddi, por ser muito usada para esse fim. Neste trabalho foi feita a extração do óleo essencial (OE) das folhas de uma amostra dessa planta através da hidrodestilação utilizando um aparelho tipo Clevenger modificado por Gottlieb, e posterior identificação dos seus componentes utilizando a técnica de Cromatografia Gasosa e espectrometria de massa (CG-EM), onde foram identificados 95 compostos diferentes, desses foram escolhidos os 10 compostos majoritários para os estudos ADMET e de Ancoramento Molecular (AM). Na avaliação ADMET, todos apresentaram bons resultados para prosseguimentos nos estudos. Na docagem molecular foram feitos a análise da forma de melhor encaixe entre a proteína (receptor) e o ligante. As proteínas escolhidas foram a COX-1 (Protein Data Bank nº 3N8X ligante cristalográfico nimesulida) e COX-2 (Protein Data Bank nº 5KIR, ligante cristalográfico rofecoxibe) que possuem ação direta na formação do processo inflamatório. Para essa análise foram utilizados os programas Chimera1.16 para preparação das moléculas e o Autodock Vina1.2.3 e o site DockThor para AM, os compostos analisados foram o mirceno, cadineno, humuleno, copaeno, limoneno, óxido de cariofileno, perilen, canofreno, muroleno e o 1,1,3a-Trimetil-7-metilenodecahidro-1Hciclopropa[a]naftaleno, e o anti-inflamatório diclofenaco para fim de comparação. Após o redocking do ligantes cristalográficos, foram realizados os ancoramentos e obtivemos os valores de energia de ligação no Autodock Vina (AG_{bind} kcal/mol) de -8,781 para o muroleno com Cox1 e o canforeno com -9,356 como maiores valores para Cox2. Foi observado que o óxido de cariofileno

apresentou os valores mais distintos entre as isoformas de Cox, sendo mais inibidor da 2. Para a análise das interações dos ligantes com o sítio ativo da proteína foi utilizado o programa LigPLot. Foram observadas na sua grande maioria interações hidrofóbicas, contendo apenas uma interação do tipo ligação de hidrogênio no complexo Cox1-nimesulida, Cox1-diclofenaco, Cox1-rofecoxibe, e Cox2-nimesulida, Cox2-diclofenaco, Cox2-rofecoxibe podendo assim justificar o seu menor valor de energia livre e maior interação. Conclui-se na análise deste OE que os compostos citados apresentam uma possível resposta positiva para ação anti-inflamatória, principalmente o óxido de cariofileno por ser mais inibidor da Cox2 do que a 1 e assim possivelmente com menores efeitos não desejados.

Palavras-chave: Tendinite, Aroeira, Admet, Ancoramento Molecular.

ABSTRACT

Tendonitis is an inflammatory process that occurs in a tendon, the inflammatory process is a protective response of the body, various chemical substances increase the production of prostaglandins synthesized by the enzymes Cyclooxygenases 1 and 2, anti-inflammatory drugs act by inhibiting these enzymes. In the search for new drugs to treat the most diverse types of illnesses, the use of medicinal plants has a tradition in popular medicine throughout the world, and we used *Schinus terebinthifolius* Raddi, as it is widely used for this purpose. In this work, we extracted the essential oil (EO) from the leaves of a sample of this plant by hydrodistillation using a Clevenger-type apparatus modified by Gottlieb, and then identified its components using the Gas Chromatography and Mass Spectrometry (GC-MS) technique, where 95 different compounds were identified, from which the 10 majority compounds were chosen for ADMET and Molecular Anchoring (MA) studies. In the ADMET evaluation, all showed good results for further studies. In the molecular docking, the best fit between the protein (receptor) and the ligand was analyzed. The proteins chosen were COX-1 (Protein Data Bank No. 3N8X, crystallographic ligand nimesulide) and COX-2 (Protein Data Bank No. 5KIR, crystallographic ligand rofecoxib), which have a direct action in the formation of the inflammatory process. For this analysis, the programs Chimera1.16 were used to prepare the molecules and Autodock Vina1.2. 3 for AM, the compounds analyzed were myrcene, cadinene, humulene, copaene, limonene, caryophyllene oxide, perilen, canophrene, murolene and 1,1,3a-Trimethyl-7-methylenedecahydro-1Hcyclopropa[a]naphthalene, and the anti-inflammatory diclofenac for comparison. After redocking the crystallographic ligands, the docking was carried out and we obtained binding energy values in Autodock Vina (AGbind kcal/mol) of -8.781 for murolene with Cox1 and camphorene with -9.356 as the highest values for Cox2. It was observed that caryophyllene oxide showed the most different values between the Cox isoforms, being more inhibitory to Cox2. The LigPlot program was used to analyze the interactions between the ligands and the protein's active site. Most of the hydrophobic interactions were observed, with only one hydrogen bond-type interaction in the Cox1-nimesulide, Cox1-diclofenac, Cox1-rofecoxib complex, and the Cox2-nimesulide, Cox2-diclofenac, Cox2-rofecoxib complex, thus explaining its lower free energy value and greater interaction. It can be concluded from the partial analysis of this EO that the

compounds mentioned present a possible positive response for anti-inflammatory action, especially caryophyllene oxide because it is more inhibitory to Cox2 than to 1 and thus possibly has less unwanted effects.

Keywords: Tendonitis, Anti-inflammatories, Admet, molecular docking.

Lista de Figuras

Figura 1.	Representação do tendão de Aquiles normal e as várias condições e lesões que podem se manifestar, da tendinite, à ruptura e tendinose, que é a degeneração na estrutura do tendão que tira sua elasticidade e pode facilitar seu rompimento Fonte: https://www.ortopediabr.com.br/tendinite/	15
Figura 2.	Imagem das diferenças morfológicas num tendão saudável e na tendinopatia Fonte: Mead, et. al., 2018	18
Figura 3.	Esquema geral das vias de biossíntese do metabolismo vegetal secundário (retângulos rosas) e suas conexões com o metabolismo primário (retângulos vermelhos), em detalhe os produtos dos metabólitos primários (verde) e os secundários (azul). (Moreira 2015).	23
Figura 4.	<i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi, Anacardiaceae. a. Vista geral do caule com estrias longitudinais. b. folha composta. Fonte: Azevedo, 2015	25
Figura 5.	Emprego do método de atracamento molecular na predição do modo de ligação do GTP ao seu sítio de ligação na proteína c-H-rasp21. Fonte: Verli, 2014.	28
Figura 6.	Interações hidrofóbicas e pontes de hidrogênio (tracejado verde) LigPlot. Complexo proteína/ligante – 3N8X e Nimesulida	52
Figura 7.	Interações hidrofóbicas entre a Cox1 e Muroleno – LigPlot	53
Figura 8.	Muroleno e Nimesulida Cox1 – ChimeraX	54
Figura 9.	Interações hidrofóbicas entre a Cox2 (5KIR) e canforeno.	55
Figura 10.	Interações hidrofóbicas da Cox1 3N8X e OC	56
Figura 11.	Interações hidrofóbicas Cox2 5KIR e OC	56
Quadro 1.	Algumas plantas utilizadas para tratamento de inflamações	22

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Descrição do TR (min), fórmula molecular, área absoluta e relativa dos principais compostos do óleo essencial das folhas de <i>Shinus terebentipholius</i> Raddi.	37
Tabela 2.	Estrutura e nomes (oficial e usual) dos principais compostos do óleo essencial das folhas de <i>Shinus terebentipholius</i> Raddi.	38
Tabela 3.	Parâmetros físico-químicos e farmacocinéticos avaliados pela ferramenta SwissADME®	40
Tabela 4.	Parâmetros Farmacocinéticos, Druglikeness e Química Medicinal. SwissADME®	42
Tabela 5.	Parâmetros de Toxicidade obtidos no Prottox II	45
Tabela 6.	Teste de toxicidade Plataforma Preadmet.	45
Tabela 7.	Valores do RSMD calculado no site DockThor	47
Tabela 8.	Valores de docking score (kcal/mol), obtidos com Vina.exe e DockThor para a interação cicloxigenase-ligante COX-1(3N8X - Ligante cristalográfico Nimesulida)	48
Tabela 9.	Valores de docking score (kcal/mol), obtidos com Vina.exe e DockThor, para a interação cicloxigenase-ligante COX2 (5KIR - Ligante Cristalográfico Rofecoxibe)	49

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- ADMET – Absorção, Distribuição, Metabolismo, Excreção e Toxicológico;
- AM - Ancoramento Molecular;
- BBB – Permeabilidade à Barreira Hematoencefálica;
- Caco-2 – Permeabilidade em células de adenocarcinoma humano;
- CG-MS – Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa;
- CYP – isoforma de P450;
- DockThor - ferramenta para AM entre proteína e ligante, desenvolvida no Brasil;
- HIA – Absorção intestinal humana;
- hERG – Risco cardíaco;
- MDCK – Permeabilidade em células caninas;
- MM – Massa molecular;
- nALH – Número de grupos aceptores de ligação de hidrogênio;
- nDLH - – Número de grupos doadores de ligação de hidrogênio;
- NLR – Número de ligações rotacionáveis;
- OE - Óleo Essencial;
- PPB – Ligação às proteínas plasmáticas;
- PreADMET – Programa computacional para análises *in silico*;
- Pubchem – Banco de dados químicos do Instituto Nacional de Saúde;
- SISGEN – Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado;
- SwissADME – Programa computacional para análises *in silico*;
- UESPI – Universidade Estadual do Piauí.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO.....	13
1.1 Objetivos	16
1.1.1 Gerais	16
1.1.2 Específicos	16
CAPÍTULO 2 – REFERENCIAL TEÓRICO	17
2.1 Tendinite.....	17
2.2 Plantas Medicinais.....	20
2.3 <i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi	25
2.4 Estudos <i>in silico</i>	26
CAPÍTULO 3 – METODOLOGIA EXPERIMENTAL	30
3.1 Extração do óleo essencial.....	31
3.2 Identificação dos compostos	31
3.3 Análises <i>in silico</i>	31
3.3.1 Avaliação do perfil ADMET	32
3.3.2 Ancoramento Molecular.....	32
CAPÍTULO 4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	35
4.1 Cálculo do rendimento do OE	35
4.2 Cromatografia Gasosa	35
4.3 Avaliação <i>in silico</i>	37
4.3.1 Predição ADMET.....	38
4.3.2 Ancoramento Molecular.....	45
CAPÍTULO 5 – CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	57
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58
ANEXO A	76

Capítulo 1

INTRODUÇÃO

As sobrecargas repetitivas de um tendão, são problemas biomecânicos ou vasculares que podem dar origem a uma resposta inflamatória, chamada tendinite, um tipo de tendinopatia, - doença do tendão - que geralmente tem um início súbito quando não tratada, podendo evoluir para um processo degenerativo, predispondo a lesões mais graves como rupturas, desgastes desnecessários e outras sequelas (Regis Filho 2006). As lesões e outras desordens do tendão representam um desafio comum para o diagnóstico e terapêutica na medicina, resultando em inflamações de longa duração (Leal 2015). A inflamação é uma fase responsiva de lesão física, química ou dano pelo ataque de um patógeno como bactérias ou vírus, onde os componentes envolvidos na inflamação são enzimas degradativas, fatores quimiotáticos, substâncias vasoativas e substâncias neuropeptídicas (Vishwakarma 2022).

As prostaglandinas (PGE), produtos do Ácido Araquidônico (AA) por ação das enzimas ciclooxigenases (Cox1 e 2), são mediadores lipídicos que desempenham importante papel no mecanismo de inflamação e a interferência em sua síntese determina uma sensível diminuição nas alterações proporcionadas pela inflamação (Bakhle et al. 1996). Na ação dos anti-inflamatórios não-hormonais (AINE) ocorre a inibição das enzimas Cox, com conseqüente diminuição da produção de prostaglandinas, combatendo, assim, a inflamação, a dor e a febre (Hilário, Terreri, and Len 2006).

A utilização de plantas medicinais e fitoterápicos é uma prática mundialmente disseminada, sendo encorajada pela Organização Mundial da Saúde (OMS), especialmente em países em desenvolvimento, incentivando a geração de políticas baseadas em evidências e planos estratégicos para o uso de plantas medicinais (OMS 2014). O uso de fitoterápicos tem aumentado nos últimos anos, o que

alavancou as pesquisas sobre identificação e caracterização de moléculas bioativas (Pereira 2021).

A aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) é uma planta da flora sul-americana encontrada em todo o Brasil, do Rio Grande do Sul a Pernambuco, principalmente na costa brasileira. Essa espécie faz parte da família *Anarcadiaceae*, incluindo a *Schinus molle*, conhecida como Aroeira-salso (Barbosa et al. 2007), sendo seu uso como planta medicinal recomendado pela Farmacopeia Brasileira, citada desde sua primeira edição em 1926 (Silva 2017).

Os óleos essenciais (OE) são extratos de origem vegetal, que podem ser extraídos tanto das cascas, dos frutos ou das folhas, e, são constituídos por substâncias bioativas sintetizadas pelas plantas para conferir resistência contra adversidades, tais como o ataque de microrganismos ou pragas de insetos (Asbahani et al. 2015). Considerando a função biológica para a qual essas moléculas são originalmente produzidas, existe a possibilidade de aplicação dos óleos essenciais em diferentes sistemas, visando obter efeitos semelhantes aos que os compostos desempenham na planta (Dannenberg et al. 2019).

Alguns monoterpenos isolados ou presentes como constituintes majoritários em óleos essenciais têm sido reportados por inibirem as ciclooxigenases, atuando, desta forma, como substâncias bioativas com propriedade anti-inflamatória. Como exemplo, pode-se citar o óleo essencial de *Torreya nucifera* (Yoon 2009), constituído, majoritariamente, por limoneno, δ -3-careno e α -pineno, que apresentou atividade inibitória seletiva para a enzima Cox2, diminuindo significativamente a produção de PGE2. Em Romero 2015, foi feita a análise in silico de 20 monoterpenos mais encontrados em OE e suas interações com as Cox 1 e 2 e o 1,8-cineol, um óxido monoterpênico presente em muitos óleos essenciais, inibiu a produção de leucotrienos (LTB 4) e prostaglandinas (PGE2), ambos produzidos no metabolismo do ácido araquidônico.

As pesquisas de novos fármacos requerem altos investimentos e uma demanda de tempo muito grande (Wouters 2020), além de complexas etapas que incluem a seleção de doenças, identificação de alvos, descoberta e otimização de leads (Dong et al. 2018). A utilização de estudos in silico adquiriu muita importância nos últimos anos, com a construção e o uso de bancos de dados virtuais, o estabelecimento de relações quantitativas estrutura-atividade (QSAR), a

determinação de farmacóforos, a geração de modelos tridimensionais de alvos macromoleculares, além de outras abordagens de modelagem molecular e simulação computacional (Ramos, 2012).

Entre essas técnicas computacionais que podem ser utilizadas, está a predição ADMET (Absorção, Distribuição, Metabolismo, Excreção e Toxicidade). Essa técnica prevê a análise da farmacocinética dos candidatos a medicamentos, se estes chegarão à proteína alvo e quanto tempo permanecerá na corrente sanguínea. Esse processo é hoje muito utilizado nas fases iniciais do desenvolvimento do fármaco (Dong et al. 2018).

Outra tecnologia usada para a avaliação das propriedades farmacológicas dos extratos e princípios ativos de plantas medicinais, o docking molecular ou ancoramento molecular (AM) que consiste na busca do “encaixe perfeito” entre as moléculas ligante e receptor, bem como a dinâmica molecular (Meng al. 2011).

A abordagem de ancoramento molecular pode ser frequente para modelar a interação entre uma molécula e uma proteína em nível molecular, que nos permitem individualizar o comportamento de pequenas moléculas no sítio de ativação das proteínas alvo, bem como para elucidar os processos bioquímicos fundamentais. Esse processo envolve duas etapas básicas: previsão da conformação do ligante, bem como sua posição e orientação dentro desses locais (geralmente referido como pose) e avaliação da afinidade de ligação. Essas duas etapas estão relacionadas a métodos de amostragem e esquemas de pontuação, respectivamente (Meng et al., 2011).

O objetivo deste trabalho foi realizar a identificação dos compostos do óleo essencial das folhas da *Schinus terebinthifolius* Raddi, além de um estudo in silico da ação anti-inflamatória de seus compostos majoritários para o tratamento da tendinite. Verificando entre os componentes majoritários identificados, através da predição ADMET e AM, aqueles que possuem maiores e melhores atividades biológicas.

1.1 Objetivos

1.1.1 Geral

- Identificar os compostos orgânicos presentes no OE das folhas da *Schinus terebinthifolius* Raddi por CG-EM e avaliar *in silico* através do AM e predição ADMET a possível ação anti-inflamatória dos seus compostos majoritários para o tratamento da tendinite.

1.1.2 Objetivos Específicos.

- Identificar e verificar as atividades biológicas dos componentes do óleo essencial da *Schinus terebinthifolia* Raddi por CG-EM.
- Fazer a predição farmacocinética ADMET (absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade) dos compostos majoritários.
- Avaliar as interações moleculares dos ligantes e proteínas através do uso de Ancoramento Molecular para ao tratamento da tendinite.

Capítulo 2

REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Tendinite

O tendão é formado por um tecido conjuntivo denso e sua função é transmitir a força de um músculo a um osso. As células que compõem o tecido tendíneo são os tenoblastos (fibroblastos) combinados com as células endoteliais e alguns condrócitos localizados em áreas de compressão (Nascimento et al., 2019).

Normalmente a tendinite, a inflamação ou doença do tendão se manifesta em uma certa parte do corpo, como a Tendinite de Aquiles que afeta o tendão de Aquiles (figura 1.1) ou aquela que afeta o tendão patelar chamada de Tendinite Patelar, o cotovelo, tornozelo, ombro, pulso, dedos e joelhos são algumas partes do corpo que pode ser afetada por essa inflamação.

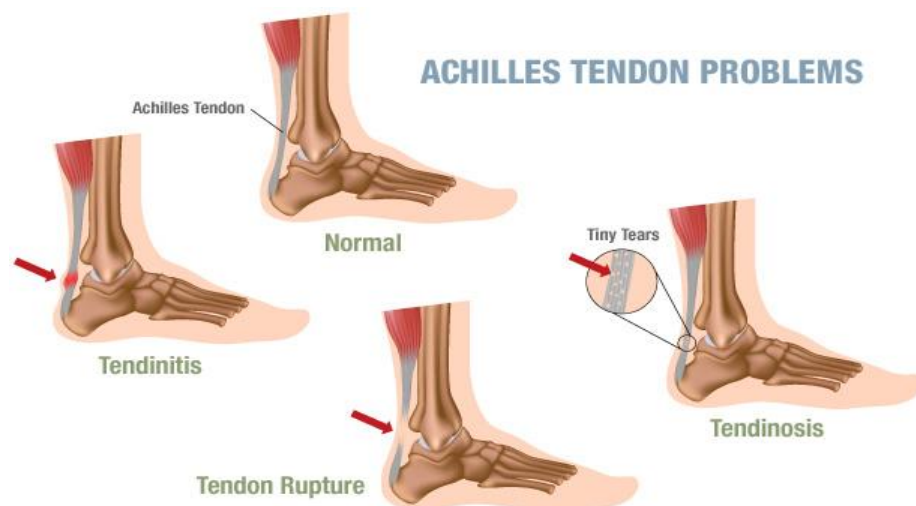


Figura 01. Problemas no tendão de Aquiles.

Inicialmente, os indivíduos relatam uma dor sutil no tendão após uma demanda de exercício, que, quando não tratada, também afeta suas atividades diárias, podendo assim evoluir para um processo degenerativo, predispondo a lesões mais graves como rupturas, desgastes desnecessários e outras sequelas (Regis Filho, 2006).

Tendões, interpostos entre músculos e ossos, contêm células e têm uma estrutura única composta de fibras longas de colágeno tipo I (70-80%) e poucas fibras elásticas. O grupo mais representativo de células são os fibroblastos altamente ativos metabolicamente denominados tenoblastos. (Chisari 2019). A inflamação começa 3-7 dias a partir da lesão, é normalmente acompanhada de dor e é caracterizada pela prevalência de inflamação das células, tais como monócitos e macrófagos onde as plaquetas levam a formação de hematomas. (Abate 2009).

Várias características são da tendinopatia no nível celular (figura 1.2). Comparados aos tendões saudáveis, os tendões não saudáveis apresentam marcada desorganização e separação das fibrilas de colágeno com concomitante aumento da substância fundamental mucóide (Mead 2018)

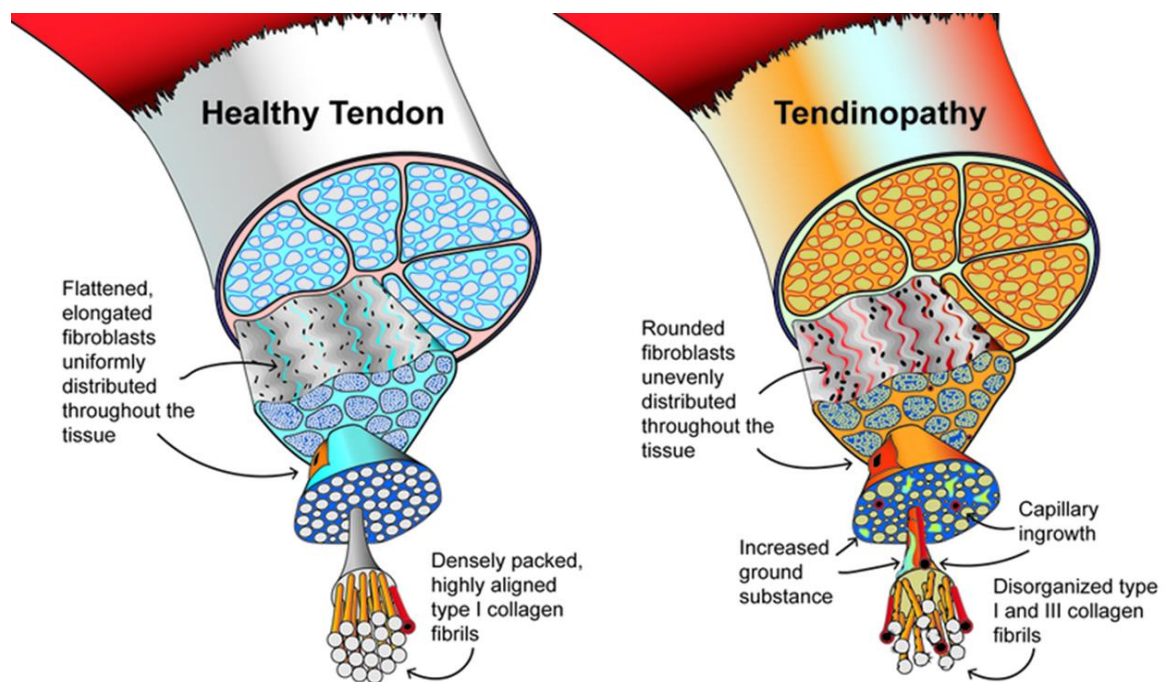


Figura 02 - Diferenças morfológicas num tendão saudável e na tendinopatia Fonte: (Mead, et. al., 2018)

O papel do processo inflamatório, as modificações histopatológicas e a patogênese da lesão crônica do tendão não estão completamente entendidos. Sabe-se que quando o tendão é posto em sobrecarga ele perde a sua capacidade reparadora basal podendo levar à micro traumas cumulativos que enfraquecem as

ligações do colágeno, a matriz não colágena e os elementos vasculares do tendão (Leal 2016).

A inflamação é uma fase responsiva de lesão física, química ou dano pelo ataque de um patógeno como bactérias ou vírus, os componentes envolvidos na inflamação são enzimas degradativas e superóxido, fatores quimiotáticos, substâncias vasoativas e substâncias neuropeptídicas (Vishwakarma 2022).

Tal processo é caracterizado pelos sinais cardinais clássicos calor, rubor, tumefação e dor, podendo levar a perda da função, caso atinja um estágio crônico. Durante esse processo são observados: uma vasodilatação arteriolar, um aumento na permeabilidade vascular, que leva a formação de um exsudato de proteínas e edema no local e ainda os leucócitos do sangue circulante migram para o local, esses leucócitos acabam por ter função importante no processo pois além de combater a lesão devido a sua ação fagocitária, mas também pela liberação de mediadores químicos.

Entre esses mediadores temos os derivados do Ácido Araquidônico (AA) que podem ser por duas vias:

- via ciclooxigenase (endoperóxidos, prostaglandinas, tromboxano)
- via lipoxinase (leucotrieno, HPETE, HETE)

As prostaglandinas, produto do AA por ação das enzimas ciclooxigenases, são mediadores lipídicos que desempenham importante papel no mecanismo de inflamação e interferência em sua síntese e determinam uma sensível diminuição nas alterações proporcionadas pela inflamação (Bakhle et al 1996).

Na ação terapêutica anti-inflamatória, foi muito importante a descoberta de duas isoformas da Cox (também denominadas prostaglandinas sintetases): enzima 1 ciclooxigenase (Cox1) e a enzima 2 ciclooxigenase (Cox2), que contribuem para o processo flogístico. Na ação dos anti-inflamatórios não-hormonais (AINH) ocorre a inibição das enzimas Cox, com conseqüente diminuição da produção de prostaglandinas, combatendo, assim, a inflamação, a dor e a febre (Hilário; Terreri; Len, 2006).

Outros receptores importantes a serem destacado que são ativados pela prostaglandina E2 é a N-metil-D-aspartato (NMDA) e o ácido alfa-amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropionico (AMPA) que possuem papel importante na transmissão nociceptiva. (Silva et al, 2017). Prostaglandina E2, o principal prostanóide pró-

inflamatório, induz uma hipersensibilidade dolorosa através da modulação das vias nociceptivas, ativa os canais iônicos periféricos como o sódio, o cálcio, e potencializa a ativação central de receptores NMDA e a-amino-3-hidroxi-5-metilsoxazol-4-propiónico (AMPA) (Kim et al., 2021). A inibição da atividade enzimática Cox2 previne produção de prostanóides, pelo que esta enzima é um alvo habitual de anti-inflamatórios não esteroides (AINEs) (Zarghi et al. 2011.).

Essas lesões e outras desordens do tendão representam um desafio comum para o diagnóstico e terapêutica na medicina, resultando em inflamações de longa duração podendo retirar da atividade esportiva ou do mercado de trabalho o paciente acometido. (Leal et al., 2016)

Tais lesões constituem-se em um grande problema de saúde nos países industrializados e em desenvolvimento, precipitada atualmente pela força de trabalho de uma mão de obra recente, com a ocupação das pessoas exigindo uma série contínua de movimentos repetitivos (Ribeiro 1997)

O processo de reparação tecidual é complexo e pode ser conceituado como uma cadeia de eventos, cada um completando o anterior e iniciando o subsequente: hemostasia, inflamação, demolição, proliferação e maturação (Silva, 2010).

Uma gama diversificada de tratamentos comuns, como anti-inflamatórios medicamentos, injeções de corticosteróides, baixo nível terapia a laser, ultrassom, injeções de plasma rico em plaquetas, proloterapia, adesivos de trinitrato de glicerol, terapia manual, terapia por ondas de choque e exercícios são usados na tendinopatia reabilitação são usados para o seu tratamento (Cardoso et al., 2019; Girgis And Duarte, 2020).

Dentre esses tratamentos temos a utilização de fitoterápicos que podem vir acompanhados de equipamentos como ultrassom e terapias de led como nos estudos de Silva et al., 2010, e Leal et al., 2016.

2.2 Plantas medicinais

Planta medicinal é definida como uma espécie vegetal, cultivada ou não, utilizada com propósitos terapêuticos. A planta medicinal pode estar em estado fresco (aquela coletada no momento do uso) e seca quando foi procedida a secagem. (BRASIL 2006)

Plantas medicinais e conseqüentemente os seus derivados são misturas complexas de substâncias químicas que apresentam diversas atividades biológicas e diferentes graus de toxicidade. Uma substância ou uma classe de substâncias pode ser responsável pela atividade apresentada pela planta medicinal ou pelo fitoterápico, mas não raro, várias substâncias agem sinergicamente para fornecer o efeito observado. Assim, muitas vezes, o extrato vegetal apresenta uma maior atividade que a substância ativa isolada (Jardim 2016).

Atualmente, a utilização de plantas medicinais e fitoterápicos é uma prática mundialmente disseminada, sendo encorajada pela Organização Mundial de Saúde (OMS), especialmente em países em desenvolvimento a OMS incentiva os países a gerar políticas baseadas em evidências e planos estratégicos para o uso de plantas medicinais (OMS, 2014). No Brasil, em 2006, o Ministério da Saúde lançou a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC), oferecendo aos usuários do Sistema Único de Saúde (SUS), principalmente no âmbito da Atenção Primária à Saúde (APS), a Fitoterapia (BRASIL 2006).

O uso de fitoterápicos tem aumentado nos últimos anos, o que alavancou as pesquisas sobre identificação e caracterização de moléculas bioativas (Lorenzi & Matos 2005).

Nesse contexto, no Brasil, existem diversas plantas medicinais que são utilizadas como fitoterápicos pelas populações rurais e urbanas (Dutra et al., 2016). Uma única espécie pode produzir inúmeros compostos químicos com diversas atividades farmacológicas (Mendonça et al., 2019), incluindo antibacteriana (Pandini et al., 2018; Pacheco et al., 2022), anti-inflamatória (Ribeiro et al., 2018; Almohawes e Alruhaimi, 2020), antioxidante (Barth et al., 2018; Pontes et al., 2019), propriedades cicatrizantes (Neto et al., 2020), efeito anti-hiperglicêmico (Silva et al., 2020) e atividade cardiovascular (Moreira et al., 2010, Silva 2021).

Apesar da divulgação atual do uso de plantas medicinais, a maioria das suas supostas propriedades farmacológicas anunciadas não possuem validade científica, por não terem sido investigadas ou por não ter suas ações comprovadas em testes científicos sendo a maioria vendida em feiras de produtos naturais sem inspeções adequadas e sem normas que garantem a procedência e, portanto, a certificação. (Veiga, 2005).

O termo Fitoterapia tem origem grega, no qual fito (phyto) significa “vegetal” e terapia (therapeia) significa tratamento. A Fitoterapia é um método terapêutico que usa a parte ativa das plantas para prevenção ou tratamento de um estado patológico, que é usado a muito tempo pelo homem por ser o único recurso disponível. (Alves, 2014). O progresso tecnológico e científico verificado no século XX permitiu a análise química dos componentes de muitas plantas, a compreensão da sua atividade farmacológica e assim centenas de componentes fitoquímicos são utilizados atualmente sob a forma de medicamentos (Lima, 2013).

As vantagens da fitoterapia pautam-se pôr as plantas serem mais acessíveis à população, quer pelo baixo custo financeiro quer pela ausência de receita médica, e ainda pela baixa ocorrência de efeitos colaterais (Alves, 2014).

Medicamentos anti-inflamatórios devem ser capazes de conter e reverter à inflamação, seja ela de origem sistêmica ou local. Eles devem apresentar ação eficaz, potência analgésica e seguridade de uso (Mendes, 2001), portanto, é fundamental identificar novos e seguros fármacos para a prevenção e tratamento de doenças, incluindo doenças inflamatórias. As plantas medicinais têm sido uma fonte de grande variedade de compostos biologicamente ativos para os processos inflamatórios (Megraj et al., 2011) são conhecidas e usadas várias plantas, por exemplo no trabalho de Marmitt 2015, mostra quais as doenças vinculadas com distúrbios inflamatórios com mais estudos publicados durante o período de análise de 2010 a 2013. (Quadro 01)

Quadro 01 - Algumas plantas utilizadas para tratamento de inflamações

Doenças inflamatórias e associadas	Planta com potencial terapêutico
Inflamação em geral	<i>Caesalpinia ferrea</i> ; <i>Curcuma longa</i> (2); <i>Kalanchoe pinnata</i> ; <u><i>Schinus terebinthifolius</i></u> ; <i>Tabebuia avellanedae</i> ; <i>Trifolium pratense</i> ; <i>Uncaria tomentosa</i> ; <i>Zingiber officinale</i> (2)
Artrite reumatoide	<i>Curcuma longa</i> ; <i>Phyllanthus amarus</i> ; <i>Tabebuia avellanedae</i> ; <i>Zingiber officinale</i>

As plantas são capazes de produzir uma grande diversidade de produtos químicos que são classificados como metabólitos primários e secundários. Os metabólitos primários são aqueles compostos que todas as plantas produzem e que estão diretamente envolvidos no seu crescimento e desenvolvimento. (Borges 2020).

Os metabólitos secundários, diferentemente dos primários, são altamente específicos e desempenham um papel importante na evolução dos vegetais e na interação com os seres vivos. Estão relacionados com a proteção dos vegetais a estresses bióticos e abióticos (Raskin et al., 2002). Alguns metabólitos secundários de plantas também têm valor medicinal significativo, portanto, o conhecimento das vias biossintéticas (figura 03) relevantes e os estímulos que determinam sua produção podem ser aplicados em culturas de células vegetais e para a engenharia metabólica de células vegetais (Isah, 2019).

Os metabólitos secundários de plantas são comumente classificados em três grupos principais com base em suas características químicas e origens metabólicas: terpenos (como carotenóides e voláteis de plantas), compostos fenólicos (como taninos, cumarinas, lignina e flavonóides), compostos contendo nitrogênio/enxofre. (como alcalóides, glicosídeos cianogênicos e aminoácidos/glicosinolatos não protéicos) (Vergine, 2020).

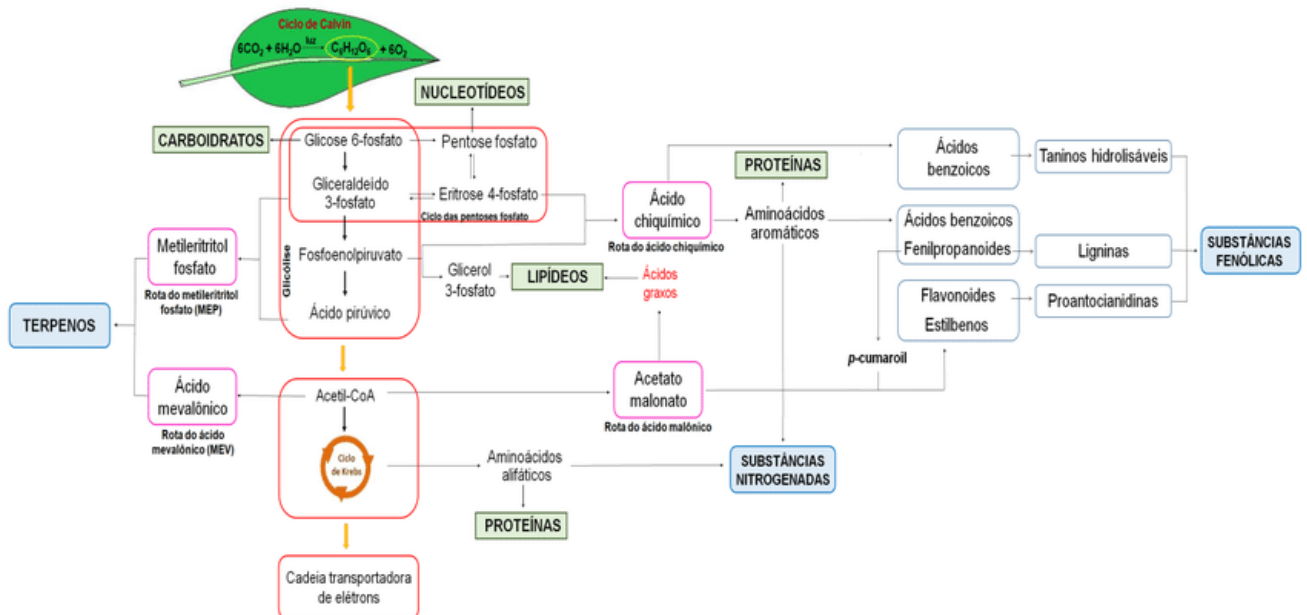


Figura 03. Esquema geral das vias de biossíntese do metabolismo vegetal secundário (retângulos rosas) e suas conexões com o metabolismo primário (retângulos vermelhos), em detalhe os produtos dos metabólitos primários (verde) e os secundários (azul). (Moreira 2015).

Os terpenos são hidrocarbonetos naturais produzidos por uma grande variedade de animais e plantas. Eles servem de base para muitas estruturas com diversas funções no metabolismo especializado e primário, variando de moléculas bastante pequenas e voláteis (por exemplo, mono e sesquiterpenos) até hormônios (como, brassinosteróides, ácido abscísico, giberelinas) e componentes celulares estruturais como os pigmentos carotenóides (Kortbeek et al., 2019).

Lopes et al. (2022) realizaram estudo com o óleo essencial das folhas da espécie *Croton heliotropiifolius* Kunth., identificaram 33 constituintes químicos, através de Cromatografia Gasosa (CG). Observou-se a predominância de monoterpenos hidrocarbonados (45,96%), sendo o α -pineno (16,70%) e o 1,8-cineol (13,81%), os dois compostos majoritários.

Os terpenos são sintetizados a partir de metabólitos primários. Os terpenóides são formados por duas rotas principais de síntese: a rota do ácido mevalônico (MVA) e a rota do metileritritol fosfato (MEP). Os óleos essenciais são compostos por uma mistura complexa de monoterpenos (C₁₀) e sesquiterpenos (C₁₅); embora diterpenos (C₂₀) também possam estar presentes (Sharifi-Rad et al., 2017). Esses óleos essenciais de plantas mostram um amplo espectro de atividade biológica

Estudos pré-clínicos documentaram atividades antimicrobianas, antioxidantes, anti-inflamatórias e anticancerígenas de óleos essenciais em vários modelos celulares e animais, elucidando também seu mecanismo de ação e alvos farmacológicos. embora a escassez de estudos em humanos limite o potencial dos óleos essenciais como agentes fitoterápicos eficazes e seguros embora ensaios clínicos mais bem desenhados sejam necessários para verificar a real eficácia e segurança desses produtos vegetais. (Sharifi-Rad, 2017).

2.3 *Schinus terebinthifolius* Raddi

A aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) é uma planta da flora sul-americana encontrada em todo o Brasil, do Rio Grande do Sul a Pernambuco, principalmente na costa brasileira. Essa espécie faz parte da família Anacardiaceae que inclui como principais gêneros o *Schinus terebinthifolius* RADDI e o *Schinus molle*, também conhecido como Aroeira-salso. (Barbosa et al., 2007).



FIGURA 04. *Schinus terebinthifolius* Raddi, Anacardiaceae. a. Vista geral do caule com estrias longitudinais. b. folha composta. (Azevedo 2015)

O seu uso como planta medicinal foi recomendado pela Farmacopeia Brasileira onde foi citada desde sua primeira edição em 1926 (Silva, 2017) Nos últimos anos foi uma espécie bastante estudada por seu uso muito comum como fitoterápico, tanto que faz parte da Relação Nacional de Fitoterápicos (RENAFITO), por mostrar segurança e eficácia do seu uso tradicional e farmacológica consta na Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME) (SAÚDE, 2020)

A Aroeira tem seu uso como planta medicinal para o tratamento de vários tipos de doenças, recomendada para o uso como agente anti-inflamatório (Santos e Amorim, 2002), destacam também o seu uso como adstringente, antimicrobiano, cicatrizante (Maia et al., 2021) o seu uso não fica restrito a recurso terapêutico, pois

ainda possui propriedades alimentícias e ecológicas servindo como apoio para recuperação de áreas degradadas (Luz, 2013). A indústria alimentícia possui grande interesse nos frutos de aroeira-vermelha devido às suas características de sabor e aroma (Uliana et al., 2016).

As principais atividades terapêuticas desta espécie estão relacionadas às suas folhas e cascas as quais possuem elevadas concentrações de taninos e óleos essenciais (Azevedo; Quirino; Bruno, 2015). Os óleos essenciais (OE) são extratos de origem vegetal, constituídos por substâncias bioativas sintetizadas pelas plantas para conferir resistência contra adversidades, como o ataque de microrganismos ou pragas de insetos (Asbahani et al., 2015). Considerando a função biológica para a qual essas moléculas são originalmente produzidas, existe a possibilidade de aplicação dos óleos essenciais em diferentes sistemas, visando obter efeitos semelhantes aos que os compostos desempenham na planta. (Dannenberg et al., 2019).

Os OE podem ser extraídos tanto das cascas como dos frutos, os principais métodos para essas extrações são: hidrodestilação, extração por solventes orgânicos, destilação a vapor, extração por fluido supercrítico, enfloração, prensagem a frio, dentre outros (Silveira et al., 2012).

2.4 Estudos *in silico*.

Atualmente a pesquisa e desenvolvimento farmacêutico possui investimento de alto risco e com valores que podem variar de alguns milhares a bilhões de dólares, sem contar na demanda de tempo, pois ele pode levar de 3 a 20 anos (Wouters, 2020). Nessa busca destaca-se a importância dos estudos *in silico*. Métodos *in silico* incluem, por exemplo, a construção e o uso de bancos de dados virtuais, o estabelecimento de relações quantitativas estrutura-atividade (QSAR), a determinação de farmacóforos, a geração de modelos tridimensionais de alvos macromoleculares, além de outras abordagens de modelagem molecular e simulação computacional. (Ramos, 2012).

Esse processo é caracterizado por etapas que inclui a seleção de doenças, identificação de alvos, descoberta e otimização de leads também como ensaios pré-clínicos e clínicos, no intuito de economia de tempo e recursos financeiros (Dong et al., 2018).

Novas tecnologias têm sido aplicadas para a avaliação de as propriedades farmacológicas dos extratos e princípios ativos de plantas medicinais, como *docking* molecular e dinâmica molecular, que é uma abordagem baseada em computador usada para fornecer uma previsão da estrutura do complexo ligante-receptor (Meng et al., 2011). A combinação da técnica computacional com ensaio biológico tornou-se uma estratégia importante para encontrar medicamentos à base de plantas (Santos, 2021).

A primeira etapa no processo de descobrimentos de novos fármacos consiste na busca por um, ou vários, alvos moleculares relacionados diretamente ao avanço da doença e depois identificá-las quais agem inibindo ou revertendo o progresso da doença, o entendimento do mecanismo é importante para esse processo (Santos, 2021).

No planejamento racional existem dois métodos utilizados para descoberta de novas entidades químicas, podendo ser baseado na estrutura alvo molecular (SBDD – structure based drug design) ou baseado em um ligante já conhecido (LBDD – ligand based drug design). No caso da SBDD a desvantagem desse método consiste na dificuldade de prever se o que foi simulado realmente irá acontecer, uma vez que ensaios in silico não possuem, ainda, a capacidade de simular o ambiente biológico de maneira precisa, da LBDD a desvantagem desse método é que os ligantes devem pertencer à mesma classe de fármacos e devem se acoplar a uma única cavidade na proteína alvo, além de atuarem pelo mesmo mecanismo de ação (Ferreira, 2011).

Entre as técnicas computacionais que podem ser utilizadas, estão o Ancoramento Molecular e a predição ADMET (Absorção, Distribuição, Metabolismo, Excreção e Toxicidade). O Ancoramento Molecular consiste na busca do “encaixe perfeito” entre as moléculas ligante e receptor. Essa metodologia foi proposta por Kuntz e colaboradores, no de 1982, na qual descrevem o reconhecimento das ligações entre moléculas, as interações químicas e geométricas poderiam ser associadas a modelos tridimensionais tanto relacionados ao alvo quanto ao ligante, buscando principalmente o modo de ligação dentro de um alvo e assim prever sua afinidade (Pantsar, 2018).

Para se compreender a maioria dos mecanismos e processos celulares é necessário determinar e compreender o modo de interação entre macromoléculas

(principalmente proteínas e ácidos nucleicos) ou entre uma macromolécula e uma pequena molécula ligante, que pode atuar como agonista/antagonista ou substrato/inibidor em determinado processo fisiológico (Verli, 2014).

O Ancoramento Molecular se baseia no modelo de chave-fechadura, mas que no caso gera uma interpretação errônea, pois considera a fechadura, a molécula receptora, de forma rígida, e no meio biológico ambas as moléculas ligantes e proteínas são flexíveis, o mais adequado é o modelo de encaixe induzido. Precisa se conhecer a estrutura química dessas moléculas, que podem ser encontradas em bancos de dados de estruturas tridimensionais como o PDB (Protein Data Bank) ou ser gerada por modelagem comparativa, já os ligantes podem ser obtidos através de bancos de dados de ligantes como o PubChem ou gerados através de programas específicos de construção das estruturas. Depois de obtidas tais estruturas os programas de ancoramento irão combinar e otimizar algumas variáveis, de complementaridade e a conformação energeticamente favorável e estimar a afinidade de ligação através de uma função de pontuação (escore) relacionado a energia de ligação (classificação) e de ajuste do ligante ao um sítio ativo (posicionamento). Os programas utilizados distinguem-se principalmente pelo método de busca e pela função de avaliação empregada (Ramos, 2012).

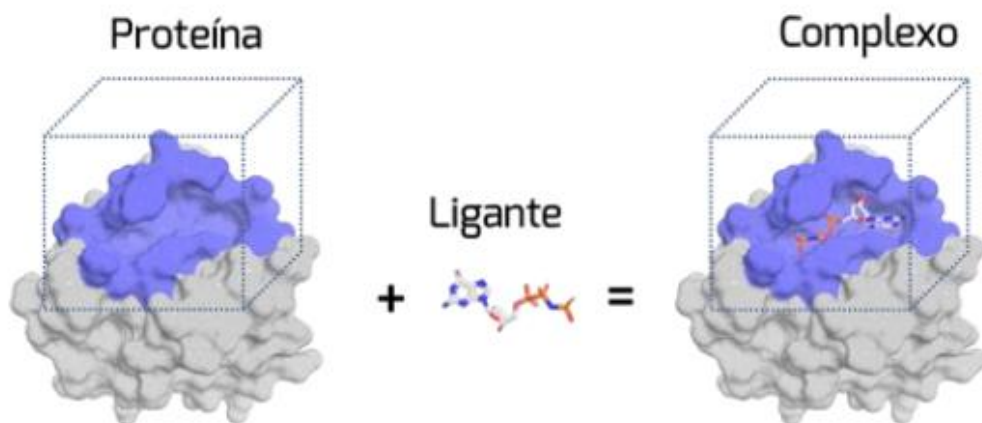


FIGURA 5 Emprego do método de atracamento molecular na predição do modo de ligação do GTP ao seu sítio de ligação na proteína c-H-rasp21. (Verli, 2014)

Para o ancoramento molecular temos vários programas online e offline, pagos e gratuitos. Alguns programas utilizados em vários estudos como o MolDock

(Thomsen; Christensen, 2006), Autodock Vina, DockThor, GOLD, FlexX entre outros (Ramos, 2012).

Para visualização dos resultados obtidos no AM, são usados alguns outros programas de visualização em 2D ou 3D, como o Ligplot®, esses diagramas produzidos servem para ilustrar o padrão de interações entre as duas moléculas e são particularmente úteis para comparar diferentes estruturas ou para estudar as interações entre diferentes ligantes e a mesma enzima (Wallace 1995; Laskowski 2011).

Na utilização da predição ADMET temos a verificação dos termos relacionado a Absorção, Distribuição, Metabolismo, Excreção e Toxicidade, essa técnica está ligada a farmacocinético dos medicamentos, se estes chegarão à proteína alvo e quanto tempo permanecerá na corrente sanguínea. Esse processo é hoje muito utilizado nas fases iniciais do desenvolvimento do fármaco evitando assim a perda de dinheiro e tempo (Dong et al., 2018).

Neste contexto, uma grande diversidade de ferramentas está disponível hoje para a previsão de ADMET, como QuickProp, DataWarrior, MetaTox, MetaSite e StarDrop, que estão interligados com bancos de dados integrados que assim podem excluir compostos inadequados (Ferreira 2019).

Os programas como: SwissADME, PreADMET, Molinspiration, PASS Online utilizam vários parâmetros, que são analisados e são baseados dependendo de cada programa, no caso do PASS Online é verificado o potencial biológico de uma molécula em contato com o organismo humano. Para verificação da biodisponibilidade oral teórica do produto é muito usada a “Regra dos Cinco” de Lipinski. Lipinsk realizou um trabalho importante e pioneiro, que examinou compostos bioativos por via oral e assim conseguiu definir parâmetros físico-químicos de uma alta probabilidade daquele composto possuir semelhança com uma droga (Tian 2015). Assim o pesquisador estabelece que pelo menos quatro de cinco requisitos ($\log P$ maior ou igual a 5, Massa Molecular menor ou igual a 500, aceptores de ligação de Hidrogênio menor ou igual a 10 e doadores de ligação de hidrogênio menor ou igual a 5) devam ser apresentados para que o composto possua uma boa biodisponibilidade (Fátima et al., 2019).

Capítulo 3

METODOLOGIA EXPERIMENTAL

3.1 Extração do óleo essencial.

As folhas da *Schinus terebinthifolius* Raddi foram coletadas de plantas cultivadas no sítio Campestre do Catulo, Timbiras, localizado na cidade de Coelho Neto – Maranhão, CEP: 65420-000, em agosto de 2019, com as seguintes coordenadas geográficas latitude (LAT) de -5.1264316 e longitude (LOG) de -42.7919133 via BR-316. O projeto para realização deste trabalho foi cadastrado na plataforma SisGen com o número: A937917.

As folhas passaram pelo processo de extração de óleo essencial pelo método de hidrodestilação no Laboratório da Universidade Estadual de Piauí (Campus Alexandre Alves Oliveira, Parnaíba-PI). As folhas foram higienizadas e submetidas ao processo de hidrodestilação em aparelho dosador de óleo essencial tipo Clevenger modificado por Gottlieb, levando a obtenção do óleo essencial, que foi tratado com sulfato de sódio anidro para retirada de traços de água presentes na amostra de óleo. (Silva 2020). Logo em seguida, o óleo já armazenado em frasco de vidro foi estocado em freezer à -18 ° C (Silva 2019). O tempo de extração foi de 3 horas contadas a partir da ebulição da amostra. O óleo essencial obtido foi pesado e armazenado em frasco âmbar sob resfriamento

Ao final, o rendimento do processo extrativo foi determinado em duplicata pela relação massa/massa (% de óleo essencial = massa de óleo essencial(g) X 100/ massa de folhas(g)). As massas foram determinadas em balança semi-analítica e seus valores comparados às respectivas massas das folhas utilizadas.

3.2 Identificação dos compostos

A análise fitoquímica do óleo essencial de *S. terebinthifolius* Raddi foi realizada no laboratório do Instituto Federal de Alagoas, em um cromatógrafo a gás, acoplado a espectrômetro de massas Shimadzu, modelo GC/MS-GCMS-QP2010CN Ultra, equipado com injetor split/splitless (250 °C), coluna cromatográfica capilar do tipo DB-1 (Agilent Technologies, Palo Alto, EUA), com fase estacionária composta de 100% dimetilpolissiloxano, 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,10 µm de espessura de filme. A programação de temperatura iniciou a 50 °C e permaneceu por 5 min, sendo elevada em seguida para 250 °C com taxa de crescimento de 5 °C/min, permanecendo por 35 min. A temperatura da câmara de ionização e da interface entre CG/EM foi 200 °C e 250 °C, respectivamente. Como gás de arraste foi usado o gás Hélio, com fluxo de 1,69 mL/min (100 kPa) e utilizado o modo splitless. Para a injeção, foi preparada uma solução de 1mg/L de cada extrato no seu respectivo solvente de extração, ou seja, em Etanol e Hexano. Posteriormente, 1 µL dessa solução foi injetada no cromatógrafo. O espectrômetro de massas operou a 70 eV no modo SCAN (Full Scan) com relação m/z iniciando em 35 e finalizando em 650. Os compostos foram identificados por comparação com espectros de massas disponibilizados nas bibliotecas NIST14, NIST14s e Wiley9, sendo considerados os compostos com mais de 70% de similaridade. A quantificação relativa de cada composto foi realizada por normalização de área com os seguintes parâmetros de integração: Slop: 100/min, width: 2 s, drift: 0/min, T.DBL 1000 min, mínima relação área/altura: 10 e sem nenhum smoothing usado no método.

3.3 Análise *in silico*

Para a obtenção das estruturas tridimensionais dos constituintes químicos/ligantes foi utilizada a plataforma Pubchem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) (Kim et al. 2021). As estruturas 3D dos principais alvos identificados (Cox1 – 3N8X e Cox2 – 5KIR) foram obtidas a partir do banco de dados Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/>) (Berman et al. 2000).

Para essas análises foram baixados os arquivos no formato sdf dos ligantes e depois salvos em formato pdb no programa Chimera, enquanto os ligantes foram baixados já no formato pdb.

3.3.1 Avaliação do perfil ADMET

A previsão computacional dos parâmetros físico-químicos, da similaridade com drogas perfil, das propriedades farmacocinética e toxicidade dos compostos majoritários foram feitas usando programas de software on-line gratuitos: SwissAdme (<http://www.swissadme.ch/index.php>) Prottox II (https://tox-new.charite.de/prottox_II/) e Preadmet (<https://preadmet.webservice.bmdrc.org/toxicity/>).

3.3.2 Ancoramento Molecular

Na preparativo dos receptores-alvo utilizou-se o CHIMERA v.13.1 (<https://www.cgl.ucsf.edu/chimera/>) (Pettersen et al. 2004) para preparar os arquivos de proteínas, sendo feita a remoção de todas as moléculas de água, exceto a água identificada HOH14, pois essa faz interações dentro do sítio ativo do ligante cristalográfico, na molécula da proteína 3N8X e sua retirada poderia causar erros nos resultados. Em ambas as moléculas das proteínas foram mantidas a estrutura do HEME (protoporfirina IX de ferro). Foram usadas as seguintes estruturas PDB ID 3N8X (Crystal Structure of Cyclooxygenase-1 in Complex with Nimesulide), PDB ID 5KIR (The Structure of Vioxx Bound to Human COX-2). As estruturas dos ligantes obtidos no banco de dados Pubchem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) (Sunghwan 2016). As moléculas das proteínas passaram pela predição da protonação do receptor através do servidor web PDB2PQR (disponível em <https://server.poissonboltzmann.org/pdb2pqr>). Depois com o uso do Chimera 1.16 através do DockPrep as cargas parciais Gasteiger (Gasteiger, and Marsili 1980) foram calculadas após a soma de todos os hidrogênios. Átomos de hidrogênio apolares de proteínas e ligantes foram posteriormente adicionados.

Os cálculos de AM foram realizados com o Autodock vina 1.2.3 (<http://autodock.scripps.edu/>) (Morris et al. 2009). Foram calculadas as variações de energia de ligação (ΔG_{bind} em kcal/mol) das interações receptor-ligante para 2 alvos

principais (proteínas) com os 10 ligantes (compostos majoritários), com os ligantes cristalográficos das Cox (redocking) e o Diclofenaco, um importante anti-inflamatório (Pereira et al 2022). Os alvos foram considerados rígidos, enquanto cada ligante foi considerado flexível. Para os cálculos de encaixe do grid foi usada uma grade, que consistia em 22 × 22 × 22 pontos. Os centros das grades de afinidade foram definidos a partir das coordenadas dos átomos de resíduos dos sítios ativos de cada alvo, com coordenadas x, y e z, no caso da 3N8X (-20.481, -51.580 e 2.346) e da 5KIR (-22.902, 1.640 e 32.519). A genética Lamarckiana algoritmo (LGA) com busca global (Morris et al. 1998) e pseudo-Solis e Wets com busca local (Solis, and Wets 1981) foram os métodos usados. Cada simulação consistiu em 50 corridas independentes (Ramos 2012). Os outros parâmetros de encaixe foram definidos com os valores padrão. As análises foram concentradas nos complexos formados com menor energia de ligação e menor constante de inibição. As conformações de menor energia passaram por uma inspeção visual para uma análise mais detalhada. A visualização das interações dos complexos com as conformações de menor energia foi preparada no Chimera e visualizada através do programa Ligplot+ v.1.4.5 (<https://www.ebi.ac.uk/thornton-srv/software/LIGPLOT/>) (Wallace et al. 1996). Depois do ancoramento foi calculada a Constante de Inibição (K_i) a partir da energia de ligação, calculada pelo Vina, usando a expressão:

$$K_i = e^{(-\Delta G/RT)}$$
 onde R constante Geral do Gases (1,985 cal/mol.K) e T a temperatura em Kelvin (298,15) (Kenny 2019).

Para fins de comparação foi utilizado o site DockThor, onde foram realizados o *docking* dos mesmos ligantes e proteínas usados no Autodock vina. Nesse site pelos sistemas de pontuações (affinity: afinidade de ligação kcal/ mol) foi realizada uma análise de redocking dos complexos PDB ID 3N8X (Crystal Structure of Cyclooxygenase-1 in Complex with Nimesulide) e do PDB ID 5KIR (The Structure of Vioxx Bound to Human COX-2). Foi feito o cálculo do RMSD, que consiste na retirada do ligante da região de ligação da conformação cristalográfica, e depois “recolocado” no sítio ativo da macromolécula através de programas de atracamento molecular (Morgon 2007). No processo de AM realizado pelo Dockthor, foi acessado o link <https://dockthor.lncc.br/v2/>, adicionado em sua primeira página a molécula do proteína, em seguida os cofatores no caso da Cox1 3N8X foram usados a molécula de HOH14, o HEME e o átomo de Fe separado pois o programa Open Babel que é

usado dentro do sistema não consegue identificá-lo, depois é adicionado a estrutura do ligante, todos os arquivos são adicionados no formado do pdb. No ancoramento da proteína 5KIR não foi adicionado como cofator a molécula de HOH14, pois ela não faz interação no sítio ativo. Após aguardar o resultado é mostrado uma tela para realizar a análise das informações e para fazer o download dos resultados obtidos e das estruturas dos compostos para análise visual.

Capítulo 4

RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Cálculo do rendimento do OE

Para 302,49 g de massa de folhas obteve-se um rendimento de 0,28 ml e massa de 0,25 g de óleo essencial. Com isso encontrou-se a densidade de 0,89 g/ml para um rendimento de 0,082% em relação à massa das folhas.

O valor encontrado é considerado baixo, mas segundo Santos 2013 e Tomazi 2017 os rendimentos obtidos nas extrações por hidrodestilação da folha da aroeira em Porto Velho – RO foi de 0.8% e em Caxias do Sul – RS de 0.45%. Esse resultado na produção de óleos das folhas poderia estar relacionado ao tempo de destilação ideal para essa planta, que seria de 2,5 h já que o aumento do tempo nesse processo altera a composição volátil (Oliveira 2014). Através do estudo do rendimento pode-se estimar a quantidade de biomassa viável para a confecção de uma quantidade satisfatória de óleo essencial. Além disso, fatores ligados à sazonalidade, nível de radiação alteram as reações de biossíntese que são organizadas por processos fotossintéticos podendo causar um aumento ou diminuição na produção de compostos secundários com isso modificar as possíveis descobertas de compostos majoritários (Ribeiro 2018).

4.2 Cromatografia Gasosa

O cromatograma mostrou 98 picos, dos quais 95 compostos constituintes foram identificados (Anexo A). Dos compostos identificados foram escolhidos os 10 com maior porcentagem em massa para análise (Tabela 1) que somadas correspondem a mais de 50% do total do óleo.

Tabela 1: Descrição do TR (min), fórmula molecular, área absoluta e relativa dos principais compostos do óleo essencial das folhas de *Shinus terebentipholius* Raddi.

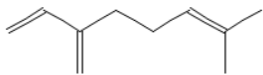
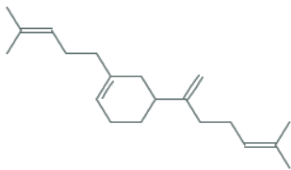
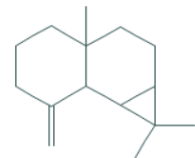
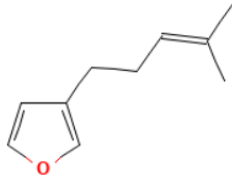
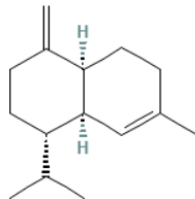
Nº	T _R (min)	Compounds	Molecular fórmula	Absolute area	Relative percentage of area (%)	Relative mass percentage (%)
1	11.656	Myrcene	C ₁₀ H ₁₆	17631885	16.49	17.96
2	36.585	m-Canphorene	C ₂₀ H ₃₂	5329623	4.98	5.39
3	27.699	1,1,3a-Trimetil-7-methilenodecahidro-1Hciclopropa[a]naftalene	C ₁₅ H ₂₄	5400811	5.05	5.16
4	15.416	Perillen[3-(4-Metil-3-penten-1-il)furano]	C ₁₀ H ₁₄ O	4176113	3.91	3.97
5	26.216	Gama.-Murolene	C ₁₅ H ₂₄	3696149	3.46	3.81
6	28.872	Caryophyllene oxid	C ₁₅ H ₂₄ O	3737514	3.50	3.61
7	12.956	D-Limonene	C ₁₀ H ₁₆	3835307	3.59	3.23
8	27.159	Gama-cadinene	C ₁₅ H ₂₄	2518912	2.36	2.65
9	23.620	Copaene	C ₁₅ H ₂₄	3420774	3.20	2.59
10	29.490	Epoxid II Humulene	C ₁₅ H ₂₄ O	3283182	3.07	2.24

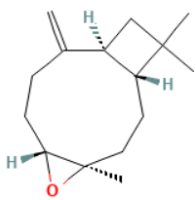
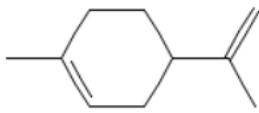
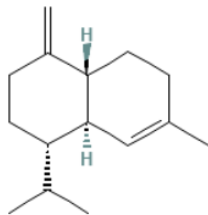
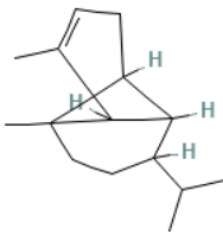
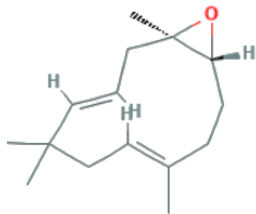
A cromatografia gasosa é o método mais empregado para determinação e quantificação de compostos voláteis ou volatilizáveis (Pinho 2009), podendo vir acoplada ou não de um espectrômetro de massa (CG-EM) tornando mais acessível tanto a separação quanto a determinação dos compostos presentes em uma dada amostra. Dentre os compostos mais comumente encontrados nos óleos essenciais estão os terpenos, e dentro desses estão os monoterpenos e os sesquiterpenos. Os monoterpenos são compostos por duas unidades isopreno; já os sesquiterpenos são formados por três unidades (Robbers et al. 1997; Simões 2004). Os compostos majoritários encontrados como monoterpenos foram mirceno e o limoneno, já sesquiterpenos: 1,1,3a-Trimetil-7-metilenodecahidro-1H ciclopropa[a]naftaleno, gama-muroleno, gama-cadineno e Copaeno. Ainda foram encontrados o m-canforeno que é um diterpeno, o óxido de cariofileno e Humuleno epóxido II são sesquiterpenoides, o perillen (3-(4-Metil-3-penten-1-il)furano é um monoterpenoide, pois possuem funções oxigenadas em suas estruturas. Tais resultados corroboram com os resultados óleo essencial formado por mono e sesquiterpenos nos frutos e nas folhas publicado em vários trabalhos (Maggiari et al. 2015; Silva 2019).

4.3 Avaliação *in silico*

Inicialmente realizou-se a busca dos compostos majoritários (ligantes) utilizados (Tabela 2), na plataforma PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>). Trata-se de uma ferramenta online onde podemos obter as estruturas em 2D ou 3D dos compostos, como todos os 10 compostos analisados possuíam suas estruturas nesse banco de dados não foi necessário a utilização de nenhum programa para desenho de suas das cadeias carbônicas.

Tabela 2: Estrutura e nomes (oficial e usual) dos principais compostos do óleo essencial das folhas de *Shinus terebentipholius* Raddi.

Num	Nome oficial (IUPAC)	Nome comum	Estrutura
1	7-methyl-3-methylideneocta-6-diene	beta-Mycene	
2	5-(6-methylhepta-1,5-dien-2-yl)-1-(4-methylpent-3-enyl)cyclohexene	m-Camphorene	
3	1,1,3a-Trimethyl-7-methylenedecahydro-1Hcyclopropa[a]naphthalene		
4	3-(4-methylpent-3-enyl)furan	Perillen	
5	(1S,4aS,8aR)-7-methyl-4-methylidene-1-propan-2-yl-2,3,4a,5,6,8a-hexahydro-1H-naphthalene	gamma-Murolene	

6	(1R,4R,6R,10S)-4,12,12-trimethyl-9-methylidene-5-oxatricyclo[8.2.0.0 ^{4,6}]dodecane	Caryophyllene oxide	
7	1-methyl-4-prop-1-en-2-ylcyclohexene	D limonene	
8	(1S,4aR,8aR)-7-methyl-4-methylidene-1-propan-2-yl-2,3,4a,5,6,8a-hexahydro-1H-naphthalene	gamma cadinene	
9	1,3-dimethyl-8-propan-2-yltricyclo[4.4.0.0 ^{2,7}]dec-3-ene	Copaene	
0	(1R,3E,7E,11R)-1,5,5,8-tetramethyl-12-oxabicyclo[9.1.0]dodeca-3,7-diene	Humulene epoxide II	

Fonte: Pubchem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>)

4.3.1 Predição ADMET

Os parâmetros físico-químicos, farmacocinéticos avaliados foram obtidos nos resultados apresentados nas tabelas 3.

Tabela 03. Parâmetros físico-químicos e farmacocinéticos avaliados pela ferramenta SwissADME®

COMPOSTOS	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Parametros.										
Massa molecular (g/mol)	136,23	272,47	204,35	150,22	204,35	220,35	136,23	204,35	190,32	220,35
Fração C_{sp3}	0,40	0,60	0,87	0,40	0,73	0,87	0,60	0,73	0,86	0,73
Num. Ligações rotacionaveis	4	7	0	3	1	0	1	1	1	0
Num. aceitadores de lig de H	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
Num. doadores de lig. de H	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Refratividade Molar	48,76	94,24	66,88	47,24	69,04	68,27	47,12	69,04	67,14	94,24
TPSA (Å²)	0,00	0,00	0,00	13,14	0,00	12,53	0,00	0,00	0,00	12,53
Lipofilicidade	3,43	6,00	4,47	2,84	4,18	3,68	3,37	4,18	4,30	6,00
Log P										
Solub água	Solúvel	Moder.	Solúvel	Solúvel	Moder.	Solúvel	Solúvel	Solúvel	Solúvel	Moder.
Log S		Solúvel			Solúvel					Solúvel

Nesses parâmetros analisados que descrevem uma visão geral das estruturas, podemos observar a massa molecular (MM), dentro dos parâmetros de até 500D. Esta é uma propriedade importante na descoberta de drogas de moléculas pequenas, porque pode impactar vários eventos moleculares, como absorção, taxa de eliminação da bile, penetração na barreira hematoencefálica, interações com alvos (dentro e fora dos alvos) (Lagorce 2017). Para os compostos analisados, nenhum ultrapassou a quantidade de 10 ligações rotacionáveis. Referente ao número de ligações rotacionáveis, que são ligações simples de fragmento acíclico, ligado a um átomo diferente de hidrogênio, esse parâmetro foi adicionado por Veber (2002), que realizou estudo onde comprovou que o aumento da rigidez da molécula está diretamente ligado ao número de ligações rotacionáveis e que ele poderá interferir na absorção.

A área de superfície polar topológica (TPSA), todos os compostos avaliados estão em conformidade, pois possuem área de superfície polar igual ou inferior a 140 Å. Importante relacionarmos a contagem de ligações rotacionais e o TPSA, considerando o enxofre e o fósforo como átomos polares, pois é um descritor útil em

muitos modelos e regras para estimar rapidamente algumas propriedades do ADME, especialmente no que diz respeito ao cruzamento de barreiras biológicas, como absorção e acesso ao cérebro (Daina 2016).

Como o número de aceitadores de ligações de hidrogênio (hydrogen bond acceptors - HBA) e número de doadores de ligações de hidrogênio (hydrogen bond donors - HBD) possuem valores menores que 12 com relação assim moléculas com mais HBA do que HBD têm um perfil ADME-Tox mais favorável, uma vez que um grande número de HBDs podem implicar em baixa permeabilidade, absorção e biodisponibilidade (Lipinski 2016).

Para a saturação, a proporção de Csp^3 carbonos hibridizados sobre a contagem total de carbono da molécula (Fração Csp^3) deve ser de pelo menos 0,25, sendo assim todos os compostos dentro dos parâmetros.

A lipofilicidade de uma molécula pode interferir na interação com uma proteína e sua capacidade de passar através de uma membrana celular, valores muito altos podem causar a retenção da molécula nas biomembranas, devido à alta lipossolubilidade, ao passo que valores muito baixos dificultam a difusão pela membrana (Waring 2020). O coeficiente de partição entre N-octanol e água ($\log P_{o/w}$) é o descritor clássico para Lipofilicidade, onde é calculado o $\log P$, o SwissAdme fornece o resultado em seis formas diferentes para o valor de $\log P$ (Daina, 2016). Dos resultados obtidos nenhum composto teve um valor superior a 6. Sobre a solubilidade em água, 3 compostos (Metacanfreno, Gamma- muroleno e Epóxido Humuleno II) apresentaram uma moderada solubilidade e os demais solúveis, como nenhum composto apresentou insolubilidade, é importante porque facilita muitas atividades de desenvolvimento de medicamentos, principalmente a facilidade de manuseio, formulação e absorção (Ritchie 2013).

A refratividade molar (RM) é um descritor relacionado ao tamanho da molécula, todos os compostos apresentaram baixos valores. A refratividade molar (RM) é um descritor relacionado ao tamanho, sendo definida como o volume molar corrigido pelo índice de refração (Sant'anna 2002; Roy et al. 2015) e está diretamente relacionada ao ajuste da molécula a seu sítio receptor. Dunn (1977) sugeriu a existência de uma relação entre o valor de MR e a conformação tridimensional da estrutura molecular de fármacos.

Na tabela 4 são apresentados os resultados relacionados a farmacocinética, druglikeness e Química Medicinal.

Tabela 04. Parâmetros Farmacocinéticos, Druglikeness e Química Medicinal. SwissADME®

Compostos	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Farmacocinético										
Absorção Gastro-intestinal (HIA)	Baixa	Baixa	Baixa	Alta	Baixa	Alta	Baixa	Baixa	Baixa	Alta
BBB permeante	Sim	Não	Não	Sim	Não	Sim	Sim	Não	Sim	Sim
P-gp substrato	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não
CYP1A2 inibidor	Não	Sim	Não	Sim	Não	Não	Não	Não	Não	Não
CYP2C19 inibidor	Não	Não	Sim	Não	Sim	Sim	Não	Sim	Sim	Não
CYP2C9 inibidor	Não	Sim	Sim	Não	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
CYP2D6 inibidor	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não
CYP3A4 inibidor	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não
Log Kp (permeação da pele) cm/s	-4.17	-2,94	-4,10	-4.94	-4.49	-5.12	-3.89	-4.49	-4.37	-2.94
Log Kp (permeação da pele) cm/h*	-0,63	-0.51	-1.20	-1.08	-0.73	-1.41	-0,81	-0.73	-1.03	-1.01

Com relação aos parâmetros farmacocinéticos a absorção gastrointestinal (HIA) e a penetração cerebral (blood-brain barrier – BBB), compostos 4, 5 e 10 demonstram possuírem alta HIA, enquanto os compostos 1, 4, 6, 7, 9 e 10 apresentaram alta BBB, os compostos que possuem alta HIA e alta BBB, podem ter efeitos farmacológicos no SNC (Araújo et al. 2018).

O conhecimento sobre os compostos serem substrato ou não-substrato da glicoproteína de permeabilidade (P-gp) é fundamental para avaliar o efluxo ativo através de membranas biológicas. (Montanari 2015). Observou-se que nenhum composto do óleo agiu como substrato, tendo assim maior possibilidade de atividade biológica. Houve interação com as isoformas CYP2C9 e CYP1A2, sendo a maioria de respostas positivas, e, os compostos 3, 5, 6, 8 e 9 foram inibidores desses dois citocromos. Um dos principais papéis da P-gp é proteger o sistema nervoso central (SNC) das substâncias químicas estranhas ao organismo humano. Também é importante ressaltar que a P-gp é expressa em algumas células tumorais e leva a cânceres multirresistentes (Szakács 2008). Nos resultados temos que nenhum composto agiu como seu substrato, tendo assim maior possibilidade de atividade biológica.

Com relação ao parâmetro de permeação da pele (skin permeation), tem-se K_p linearmente correlacionado com tamanho molecular e lipofilicidade. Este parâmetro está relacionado a absorção sistêmica de drogas após a administração transdérmica (Sobanska et al. 2021). Quanto mais negativo for o $\log K_p$ (com K_p em cm/s), menos permeável à pele é a molécula, já que se considera uma molécula permeável com valor de $\log K_p$ superior a -2,5 cm/h (Awadelkareem et al. 2022). Os resultados mostram que todos os compostos apresentam uma boa penetração na pele.

Druglikeness é traduzida como semelhança com drogas, e, avalia qualitativamente a chance de uma molécula se tornar um medicamento oral em relação à biodisponibilidade. Neste estudo, os compostos não apresentaram violações para os filtros de Lipinski e Veber. No entanto, houve violações nos filtros Egan (compostos 2 e 10), Ghose (ligantes 1, 2, 4, 7 e 10) e em Muegge com todos os compostos violando suas regras, mas considerando no geral que apenas ocorreram no máximo 2 violações, podemos acreditar que os compostos tem boa biodisponibilidade, pois no parâmetro de Bioavailability Score (escore de biodisponibilidade) todos apresentaram um bom valor, como essa pontuação depende da carga total, TPSA, da violação às regras de Lipinski ela procura prever a probabilidade de um composto ter pelo menos 10% de biodisponibilidade oral em rato ou permeabilidade mensurável de Caco-2 (Daina 2017)

No parâmetro de escore de biodisponibilidade (bioavailability score) todos apresentaram valores de 0,55. Na seção de Química Medicinal, PAINS (pan assay interference compounds) que são compostos que causam alguma interverencia, não houve alertas. Esses métodos de reconhecimento de padrões permitem a identificação de fragmentos potencialmente problemáticos, para compostos de interferência de ensaio tanque, também conhecidos como rebatedores frequentes ou compostos promíscuos (PAINS), que são moléculas contendo subestruturas que mostram uma resposta potente em ensaios independentemente da proteína alvo. Tais fragmentos, produzindo resultados biológicos falsos positivos, foram identificados por Baell et al. (2010), o Alerta Estrutural de Brenk, que consiste em uma lista de 105 fragmentos identificados por Brenk et al. (2008), como supostamente tóxico, quimicamente reativo, metabolicamente instável ou com propriedades responsáveis por uma farmacocinética deficiente (Daina 2017), tais resultados podem caracterizar uma possível instabilidade metabólica.

Na mesma seção, houve o Alerta Estrutural de Brenk em todas as moléculas, com a presença de alqueno isolado, nos compostos 2 e 9 ainda aparecem polienos e no composto 6 três membros de heterocíclicos. No conceito de similaridade de Leadlikeness, todas as moléculas apresentaram violações, principalmente relacionadas ao peso molecular, exceto as moléculas 2 e 10 que violaram o parâmetro de XLOGP (Tabela 4).

A acessibilidade sintética (Synthetic accessibility - SA) é um fator importante a ser considerado nesse processo de seleção considerando SA Score variando de 1 (muito fácil) a 10 (muito difícil), mostra que todos possuem uma boa acessibilidade sintética, com o composto 4 com maior facilidade e a molécula 2 com a menor facilidade a acessibilidade sintética (Synthetic accessibility - SA) é um fator importante a ser considerado nesse processo de seleção. Ertl e Schuffenhauer (2009) propuseram uma abordagem baseada em impressão digital para estimativa de SA, mas incluindo informações de código fechado sobre a definição de impressão digital, assim foi desenvolvido um método analisando mais de 13 milhões de compostos entregues imediatamente pelos fornecedores. Esses fragmentos mais frequentes e comuns indicam uma alta SA.

Na avaliação do efeito toxicológico dos candidatos a fármacos, utilizou-se a plataforma Protox II (https://tox-new.charite.de/protox_II/) (Tabela 5). Observou-se que o perilen (4) possui uma classificação mediana na classe de toxicidade, assim como a menor taxa de LD₅₀. O metacanforeno (2) foi o único classificado como ativo para hepatotoxicidade, que é uma lesão hepática causada por ingestão, inalação ou administração parenteral de agentes farmacológicos ou químicos. E os compostos muroleno (5), cariofileno (6) e cadineno (8) apresentaram atividade imunotoxicidade, tal parâmetro representa substâncias químicas que alteram o funcionamento do sistema imunológico após a exposição, sendo chamadas de imunotoxinas.

Enquanto, para os parâmetros de mutagenicidade e citotoxicidade foram todos inativos. O metacanforeno foi o único classificado como ativo para hepatotoxicidade, que é uma lesão hepática causada por ingestão, inalação ou administração parenteral de agentes farmacológicos ou químicos.

Tabela 05 - Parâmetros de Toxicidade obtidos no Protóx II

Compostos	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Parâmetros										
LD50 previsto mg/kg	5000	1190	5000	104	4400	5000	4400	4400	3700	5000
Classe de toxicidade prevista (GHS)	5	4	5	3	5	5	5	5	5	5
Hepatotoxicidade	inat	ativo	inat	inat	inat	inat	inat	inat	inat	inat
Carcinogenicidade	inat	inat	inat	inat	inat	inat	inat	inat	inat	inat
Imunotoxicidade	inat	ativo	inat	inat	inat	ativo	inat	ativo	inat	inat
Mutagenicidade	inat	inat	inat	inat	inat	inat	inat	inat	inat	inat
Citotoxicidade	inat	inat	inat	inat	inat	inat	inat	inat	inat	inat

A tabela 6 mostra os resultados obtidos através da submissão dos compostos a teste de toxicidade na plataforma Preadmet, a fim de comparação e identificação de suas características, onde se observou que somente o composto 8 (cadineno) não é mutagênico. No teste de carcino rat todos foram positivos e no carcino mouse foram positivos os compostos 2, 4, 6 e 10.

Tabela 06 Teste de toxicidade Plataforma Preadmet.

Compostos	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Parametros										
Teste Ames	mut.	mut.	mut.	mut.	mut.	mut.	mut.	não	mut.	mut.
Carcino mouse	negat	posit	negat	posit	negat	posit	negat	negat	negat	posit
Carcino rat	posit	posit	posit	posit	posit	posit	posit	posit	posit	posit
Herg inibição	m.r.*	m.r.	m.r.	m.r.	m.r.	m.r.	m.r.	m.r.	m.r.	m.r.

* m.r =médio risco

Os resultados obtidos na plataforma Preadmet demonstraram inibição de hERG (gene humano ether-à-go-go), que é um modelo usado para avaliação do risco pró-arritmia cardíaca, pois o bloqueio dos canais hERG K⁺ está intimamente associado à arritmia cardíaca letal. A importância da não inibição do ligante deste

canal marcou o hERG como um dos mais importantes anti-alvos a serem considerados nas fases iniciais do processo de desenvolvimento de fármacos (Braga 2015; Braga 2014), nesse caso a plataforma mostra que os compostos apresentam médio risco.

Nos resultados de mutagenicidade usando o teste de Ames, que é um método simples para testar a mutagenicidade de um composto usando várias cepas da bactéria *Salmonella typhimurium*. Esta bactéria carrega mutações em genes envolvidos na síntese de histidina, de modo que requer histidina para crescer. A variável que está sendo testada é a capacidade do mutagênico de causar uma reversão ao crescimento (Ames, 1972). Apesar do resultado ter apresentado apenas o copaeno como não-mutagênico, esse teste de mutagenicidade não é desejável como teste único, porque é menos sensível do que um teste específico de mutação (por causa das muitas mutações espontâneas de vários tipos) e pode, em casos especiais, não funcionar em todos (Ames et al. 1973). Nos testes de Carcino Mouse e Rat são observados a toxicidade que pode causar câncer no corpo. Geralmente o teste de carcinogenicidade requer muito tempo (geralmente 2 anos), atualmente apenas métodos de teste in vivo são estabelecidos. Normalmente, o teste usa camundongos ou ratos, expondo-os a um composto. E a variável a ser observada é a existência de câncer. O PreADMET prevê o resultado de seu modelo, que é construído a partir dos dados do NTP (National Toxicology Program) e do US FDA, que são os resultados dos testes de carcinogenicidade in vivo de camundongos e ratos por 2 anos. (Pimentel 2017). Uma previsão positiva indica que não há nenhuma evidência de atividade carcinogênica, no caso de carcinogenicidade no rato todos os compostos analisados apresentaram uma previsão positiva. Outros compostos investigados foram previstos como negativos, o que significa que há evidência de atividade carcinogênica em camundongos que foram os casos dos mirceno, ciclopropanaftaleno, gama-muroleno, d-limoneno, gama cadineno e copaeno.

4.3.2 Ancoramento Molecular

Para que o resultado do programa de docking seja “aceitável”, as estruturas que passaram pelo processo de redocking, devem apresentar um valor de raiz

quadrada do desvio médio quadrático (RMSD) de até 2 Å com a estrutura cristalográfica do ligante. O RMSD calculado através do site DockThor estão na tabela 07.

Tabela 07 – Valores do RMSD calculado no site DockThor.

PROTEÍNA	LIGANTE CRISTALOGRÁFICO	RMSD (Å)
3N8X	Nimesulida	0,740
5KIR	Rofecoxibe	1,139

De acordo com os resultados de redocking obtidos, consideramos que o protocolo de docking adotado foi considerado adequado (Castro-alvarez 2017).

As tabelas 8 e 9 apresentam os valores da energia de ligação calculadas através dos valores de ΔG_{bind} (kcal/mol) com o uso do Autodock Vina e Dockhtor, e o valor da constante de ionização (K_i).

Tabela 08 - Valores de docking score (kcal/mol), obtidos com Vina.exe e DockThor para a interação cicloxigenase-ligante COX-1(3N8X - Ligante cristalográfico Nimesulida)

Proteína	Ligante	ΔG_{bind} (kcal/mol) Vina	Ki uM	ΔG_{bind} (kcal/mol) Dockthor	Aminoácidos Interagindo com Lig. de Hidrogênio	Aminoácidos que fazem interações hidrofóbicas
COX-1 (3N8X)	Muroleno	- 8,781	0,365	-9.225		Phe518, Ile523, Ser530, Gly526, Val349, Ala527, Tyr355, Ser353, Leu352
	Canforeno	- 8,130	1,097	-10.713		Phe518, Tyr385, Gly525, Trp387, Leu384, Leu352, Leu359, Leu531; Phe381, Ser530, Ile345, Val349, Leu331, Val116, Met113, Arg120, Tyr355, Ser353, Ile523, Ala527
	Rofecoxib	- 7,974	1,427	-9.941	Ile 517 His 090 Ser 530 (HOH 14)	His513, Gln192, Ser516, Leu352, Tyr355, Ser353, Val349, Ala527, Met522, Ile523, Phe518, Ser516.
	Diclofenaco	- 7,742	2,111	-9.294	Ser120	Tyr385, 387 e 355; Ser530 e 353; Met522, Leu352, Ala527, Trp387, Val349, Ile523, Phe518
	Nimesulida*	- 7,725	2,176	-9.405	Arg 120 Ser 530 (HOH 14)	Trp387, Ala527, Gly526, Val349, Leu531, Leu359, Tyr355, Ile523, Ser353, Leu352, Phe518, Met522
	Cadineno	- 7,439	3,52	-9.242		Tyr355, Leu531, Ile523, Ser353, Phe518, Leu352, Ser530, Ala577 e Val349
	Limoneno	- 7,025	7,081	-8.490		Trp387, Ser530, Ala527, Gly526, Phe518, Met522 Ile523, Leu 352.
	Perillen	- 6,529	10	-8.720		Tyr355, Ser353, Ile523, Phe518, Leu352, Gly526, Met522, Trp387, Ala527, Ser530.
	Mirceno	- 6,267	20	-8.272		Gly526, Leu384, Tyr385, Ser530, Leu352, Phe518, Ile523, Val349, Trp387, Ala527, Phe381.
	Copaeno	- 6,055	30	-9.392		Ser530, Trp387, Val349,

						Tyr355, Arg120, Ser353, Ile523, Leu532, Ala 527, Phe518.
	Ciclopropanonaftaleno*	- 5,871	40	-9.858		Phe518, Leu532, Ala527, Val349, Ser530, Arg120, Ser353, Tyr355, Ile523.
	Humuleno	- 4,432	560	-9.378		Phe518, Ala527, Ile523, Ser530, Val349, Leu359, Arg120, Tyr355, Ser353, Leu352.
	Óxido de cariofileno	- 4,598	42	-9.608		Ala527, Ser530, Ile523, Leu352, Tyr355, Phe518, Arg120, Ser353, Val349, Gly526

Tabela 09 - Valores de docking score (kcal/mol), obtidos com Vina.exe e DockThor, para a interação cicloxigenase-ligante COX2 (5KIR - Ligante Cristalográfico Rofecoxibe)

Proteína	Ligante	ΔG_{bind} (kcal/mol) Vina	Ki uM	ΔG_{bind} (kcal/mol) Dockthor	Aminoácidos Interagindo com pontes de Hidrogênio	Aminoácidos que fazem interações hidrofóbicas
COX-2 (5KIR)	Rofecoxibe	- 10,494	0,020	-10.371	Phe518	Val349, Met522, Gly526, Leu531, Ala527, Trp387, Leu352, Gln192, Ser530, Ala516, Ile517, Val523, His90, Ser353, Arg513, Tyr355.
	Nimesulida	- 9,417	0,014	-9.562	Tyr355	Val349, Leu359, Arg120, Ala527, Ser530, Gly526, Leu352, Trp387, Val523, His90, Ser353.
	Canforeno	- 9,356	0,138	-10.201		Gln192, Phe518, Ala527, His90, Leu352, Val349, Phe381, Phe209, Tyr385, Phe205, Leu354, Ser530, Trp387, Tyr348, Ser353, Val523.
	Diclofenaco	-8,824	0,034	-9.373	Leu352	Ser353, Val349, Tyr355, Ala527, Tyr348, Tyr385, Gly526, Trp387, Ser530, Met522, Val523, Phe518, Val523.

	Cadineno	- 8,240	0,911	-9.417		Leu359, Arg120, Ala527, Leu352, Val349, Ser530, Tyr355, Ser353, Val523, Leu531.
	Muroleno	- 8,143	1,07	-9.488		Ser353, Val523, Tyr355, Leu531, Ala527, Val349, Leu352, Phe518.
	Óxido de cariofileno	-7,391	3,818	-9.544		Arg120, Leu352, Tyr355, Ser353, Val349, Ser530, Ala527, Met522, Val523, Phe518, Gly526.
	Copaeno	-7,388	3,83	-9.524		Ser353, Leu352, Arg120, Ala527, Tyr355, Gly526, Trp387, Phe518, Ser530, Met522, Val523, Val349.
	Limoneno	- 6,671	10	-8.486		Ser 353, Val523, Phe518, Leu352, Met522, Ser530, Gly526, Tyr385, Trp387.
	Humuleno	- 6,457	10	-9.450		Leu531, Ser353, Tyr355, Leu352, Val523, Ser530, Gly526, Val349, Ala527, Arg120, Leu359.
	Perillen	-6,402	20	-8.714		Ser353, Phe518, Leu352, Met522, Ala527, Trp387, Gly526, Ser530, Val523
	Ciclopropanonaftaleno*	-6,284	20	-9.455		Ser353, Val349, Arg120, Ala527, Gly526, Met522, Val523, Leu352, Tyr355, Phe518.
	Mirceno	-5,877	40	-8.502		Tyr385, Ala527, Ser530, Gly526, Met522, Phe518, Val523, Leu352, Trp387, Tyr348.

Ambas as tabelas mostram valores negativos para todas as moléculas analisadas, em ambos os programas utilizados, segundo Guimarães et al (2014), valores negativos de ΔG_{bind} representam interações favoráveis do complexo ligante-receptor. A constante de inibição (K_i), assim como a energia de docagem, prediz informações sobre a estabilidade do complexo receptor-ligante formado,

quanto menor K_i , maior a estabilidade do complexo e conseqüentemente, maior a eficácia do ligante em inibir o receptor. As interações com os maiores valores foram para os ligantes canforeno e muroleno, pelo Vina e o canforeno em ambas as proteínas com o uso do DockThor, valores até maiores que dos compostos já utilizados no mercado com função anti-inflamatória. Essa interação é importante já que essa menor energia pode caracterizar uma maior inibição da Cox1 que está associada por exemplo ao aumento do risco de sangramentos e a danos no trato gastrointestinal. Os inibidores seletivos e específicos de Cox2 foram desenvolvidos na tentativa de diminuir a incidência dos efeitos adversos da inibição da Cox1, como por exemplo os compostos aqui utilizados para comparação nimesulida e diclofenaco (Brune 2004; Hilário 2006).

Nos valores encontrados para a Cox2 (Tabela 8), no Autodock Vina a menor energia encontrada foi com o Rofecoxibe que é o seu ligante cristalográfico, depois dela temos as moléculas com menores valores: canforeno (-9,356 kcal/mol), cadineno (-8,240 kcal/mol) e o muroleno (-8,143 kcal/mol). Demonstrando valores próximos aos anti-inflamatórios nimesulida e diclofenaco. Nos valores encontrados para o DockThor, temos o menor valor para o canforeno (-10.741 kcal/mol). Os valores calculados são diferentes entre os programas, que é justificado por eles possuírem critérios diferentes de score, o Autodock Vina mistura a função de pontuação baseada em conhecimento com a empírica (Trott; Olson, 2010) já o DockThor, programa web e gratuito, desenvolvido no Brasil, que usa a função de pontuação de campo de força e ambos usam o algoritmo de busca estocástico (Guedes; De Magalhães; Dardenne, 2014). Na análise dos valores apresentados pelo Autodock Vina o composto Óxido de Cariofileno, seria aquele que teria mais seletividade para Cox2 pois é a molécula que possui maior diferença no valor das

energias de interações das duas proteínas (-7,391 com a Cox2 e - 4,598 com a Cox1). Para o ibuprofeno, assim como para a maioria dos monoterpênicos, observa-se que os valores de energia de interação são similares para as enzimas Cox1 e Cox2, como em Romero, 2015.

Na análise das interações dos compostos com as proteínas, pode-se relacionar maiores valores àquelas que possuem interações mais intensas, no caso das ligações de hidrogênio, que ocorrem no Cox1 com a nimesulida, rofecoxibe e diclofenaco, mostrando ainda que no caso da nimesulida e rofecoxibe ter uma interação forte com a água presente no sítio ativo, fazendo a ponte entre o ligante e o resíduo Ser530 da proteína, figura 6.

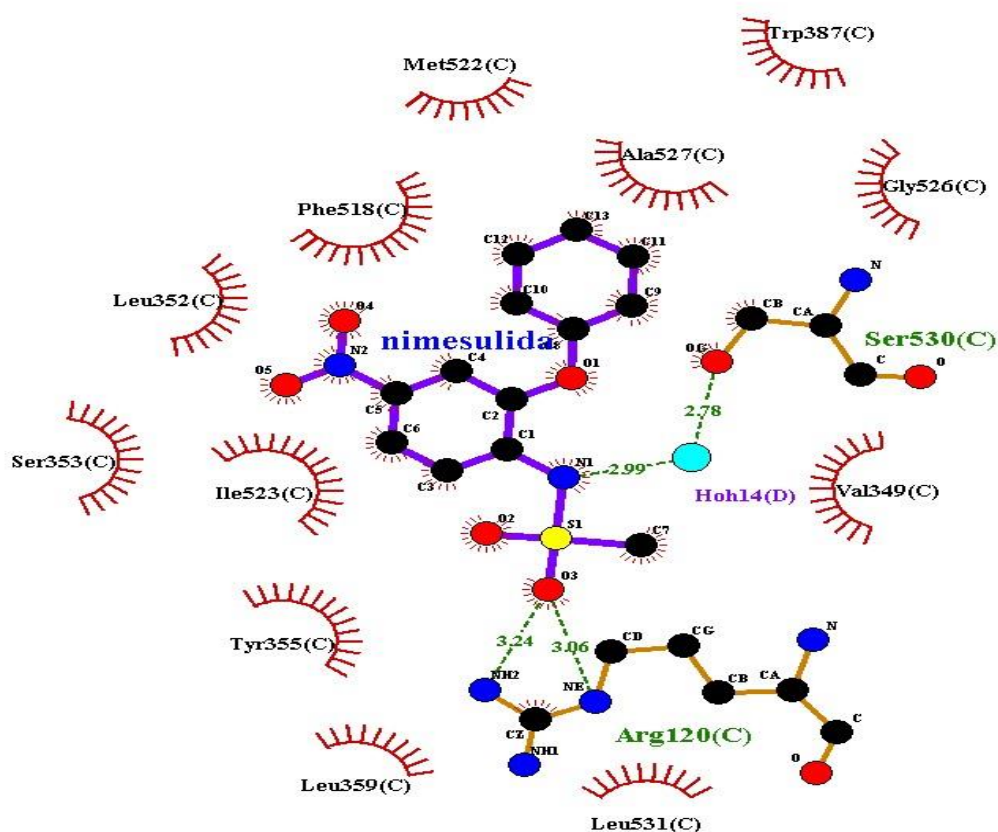


Figura 06 – Interações hidrofóbicas e pontes de hidrogênio (tracejado verde) LigPlot. Complexo proteína/ligante – 3N8X e Nimesulida

Assim podemos observar a importância dessa molécula de água permanecer durante a preparação da proteína para o AM. (Rocha et al. 2018; Figueiredo et al. 2022). Dos ligantes analisados do OE, o muruleno apresentou menor valor de interação com Cox1, sendo assim um forte inibidor e possuindo somente interações hidrofóbicas (Figura 7).

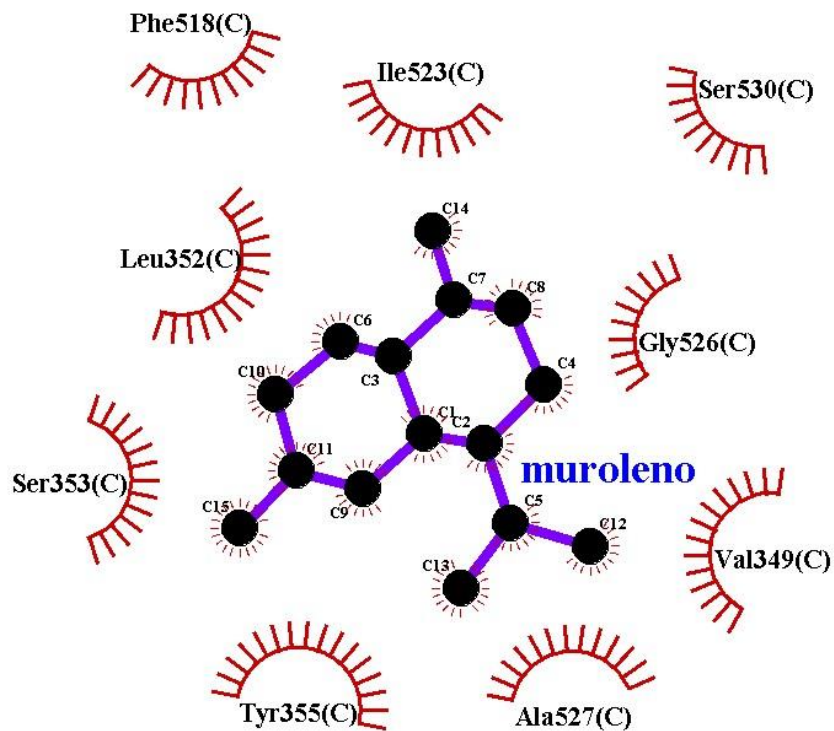


Figura 07. Interações hidrofóbicas entre a Cox1 e Muroleno – LigPlot

A figura 8 mostra a localização dos ligantes Nimesulida (Amarela) e Muroleno (vermelho) na proteína Cox1, mostrando o encaixe do ligante com a proteína.

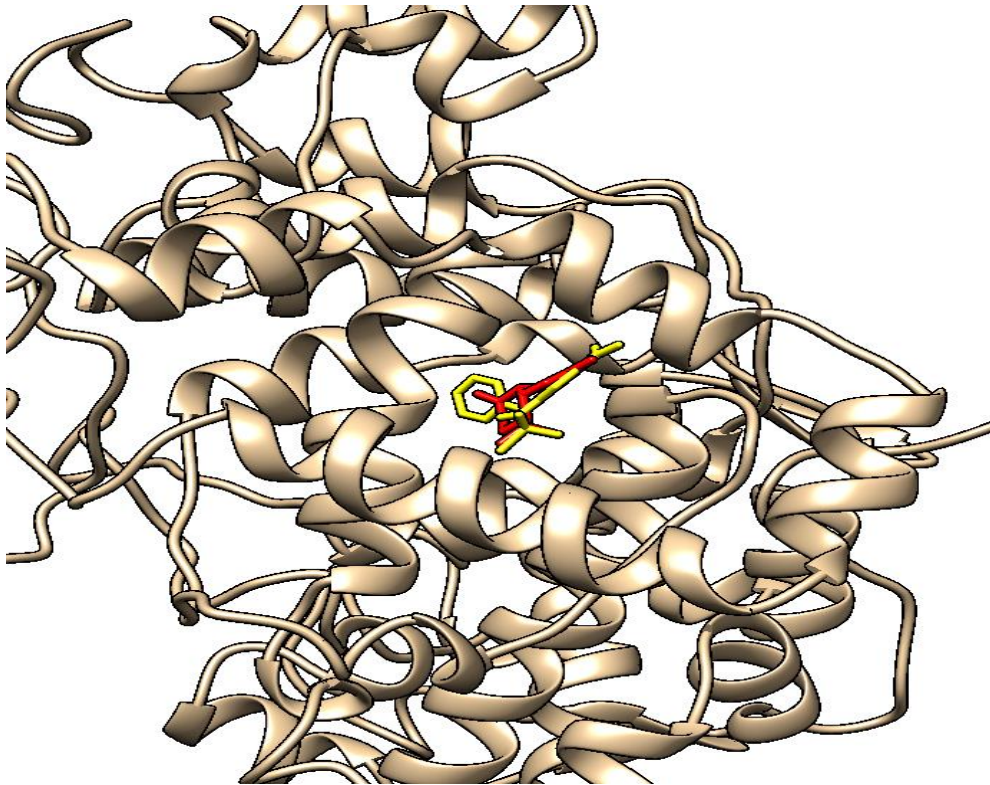


Figura 08. Muroleno e Nimesulida Cox1 – ChimeraX

No caso da Cox2, o canforeno foi o composto que apresentou valores mais baixos, apresentando também somente interações hidrofóbicas. Notou-se a presença de uma quantidade grande de resíduos fazendo esse contato, principalmente devido ao tamanho de sua molécula (Figura 09).

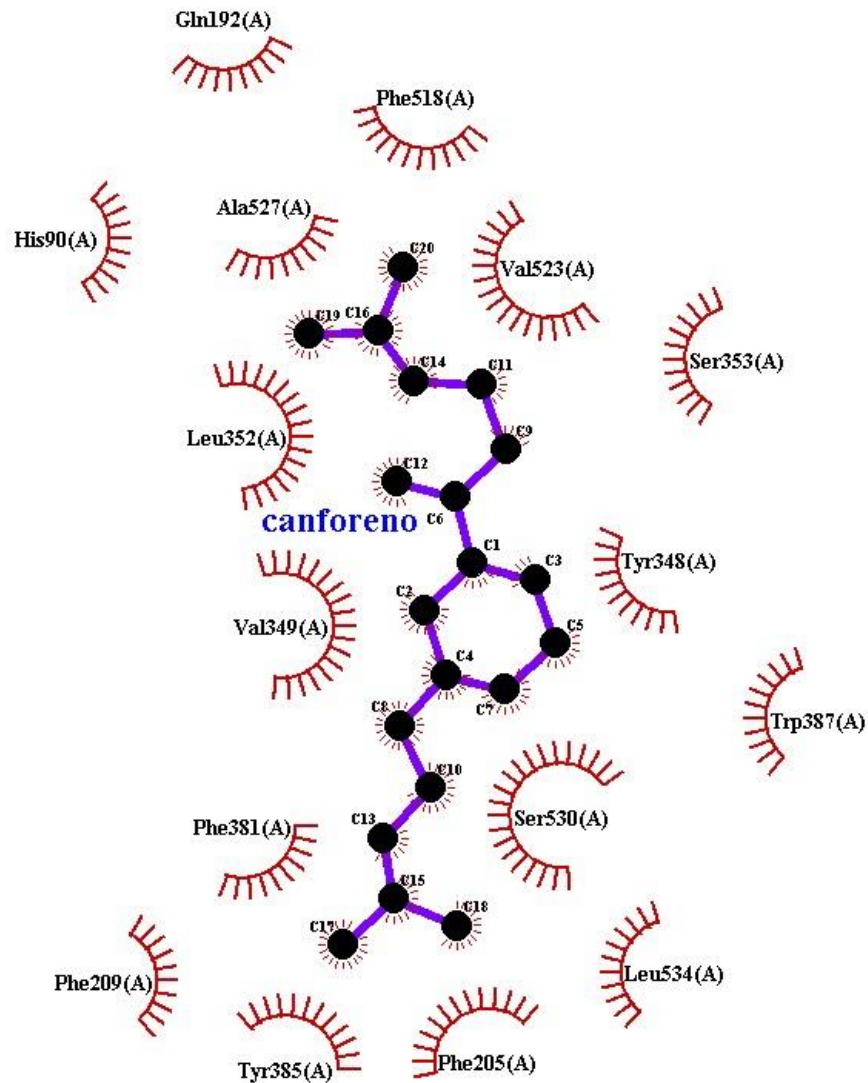


Figura 09. Interações hidrofóbicas entre a Cox2 (5KIR) e canforeno.

O óxido de cariofileno apresentou valores distintos para as interações com Cox1 e Cox 2, demonstrando ser mais inibidor de Cox 2 do que Cox 1 (Figuras 10 e 11), assim sendo um composto que requer uma maior atenção para estudos em sistema isolado, podemos observar as interações hidrofóbicas ocorrendo entre os resíduos da proteína e a cada do ligante.

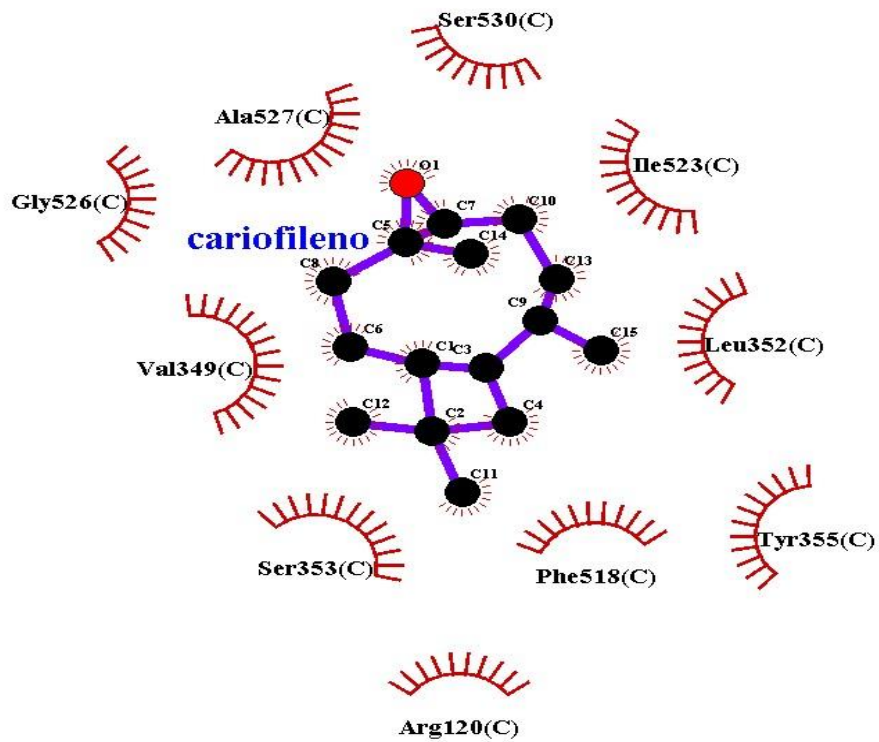


Figura 10. Interações hidrofóbicas da Cox 1 3N8X e OC

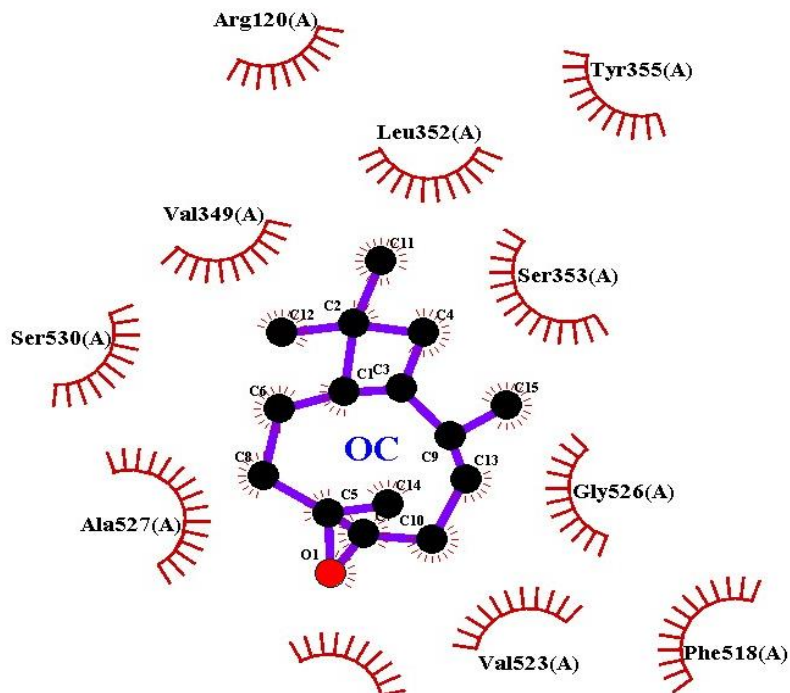


Figura 11 Interações hidrofóbicas Cox 2 5KIR e OC

Os resíduos mais comuns como por exemplo a Tyr355, Tyr385, Arg120 são alguns que vários estudos já confirmaram como relevantes nas interações envolvendo os referidos aminoácidos, apontando assim eles como alvos potenciais na investigação de inibidores Cox1 e Cox2 (Silva 2017).

Capítulo 5

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As análises *in silico* dos constituintes químicos majoritários do óleo essencial das folhas de *Schinus terebinthifolius* Raddi indicam que as propriedades farmacocinéticas e toxicológicas, tal como a absorção oral, são sugestivas para bons candidatos a fármacos, bem como o ancoramento molecular que demonstraram suas boas interações proteína-ligante. Sendo o óxido de cariofileno como o melhor classificado em termos de resultados de maior inibição para Cox2 e menor para Cox1 podendo, assim ser isolado e utilizado em novos estudos, principalmente *in vitro* e *in vivo* para que possam corroborar com melhores resultados no tratamento de tendinites.

REFERÊNCIAS

ABATE M, Silbernagel KG, Siljeholm C, Di Iorio A, De Amicis D, Salini V, Werner S, Paganelli R. Pathogenesis of tendinopathies: inflammation or degeneration? *Arthritis Res Ther.* 2009;11(3):235. doi: 10.1186/ar2723. Epub Jun 30. PMID: 19591655; PMCID: PMC2714139.8, 2009.

ALVES, MARIA TERESA ABRUNHOSA FERRAZ. Plantas medicinais no alívio da dor inflamatória. 2014. Monografia (Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, [S. l.], 2014.

AMES BN, GURNEY EG, MILLER JA, BARTSCH H. Carcinogens as frameshift mutagens: metabolites and derivatives of 2-acetylaminofluorene and other aromatic amine carcinogens. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1972 Nov;69(11):3128-32. doi: 10.1073/pnas.69.11.3128. PMID: 4564203; PMCID: PMC389719.

ALMOHAWES, Z. N., & ALRUHAIMI, H. S... Effect of *Lavandula dentata* extract on Ovalbumin-induced Asthma in Male Guinea Pigs. *Brazilian Journal of Biology*, 80(1), 87–96. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.191485>, 2020.

ARAÚJO, E.J.F., REZENDE-JÚNIOR, L.M., LIMA, L.K.F., et al., 2018. Pathophysiological investigations, anxiolytic effects and interaction of a semisynthetic riparin with benzodiazepine receptors. *Biomed. Pharmacother.* 103, 973–981. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.04.130>.

ASBAHANI, A., K. MILADI, W. BADRI, M. SALA, E.H. AÏT ADDI, H. CASABIANCA, A. EL MOUSADIK, D. HARTMANN, A. JILALE, F.N.R. RENAUD, AND A. ELAISSARI. 2015. Essential oils: from extraction to encapsulation. *International Journal of Pharmaceutics.* 483: 220-243. doi: [10.1016/j.ijpharm.2014.12.069](https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2014.12.069)

-
- AWADELKAREEM, A. M., AL-SHAMMARI, E., ELKHALIFA, A. E. O., ADNAN, M., SIDDIQUI, A. J., SNOUSSI, M., ASHRAF, S. A. (2022). Phytochemical and In Silico ADME/Tox Analysis of *Eruca sativa* Extract with Antioxidant, Antibacterial and Anticancer Potential against Caco-2 and HCT-116 Colorectal Carcinoma Cell Lines. *Molécules*, 27 (4), 1409.
- AZEVEDO, C. F., QUIRINO, Z. G. M., & BRUNO, R. L. A. Estudo farmacobotânico de partes aéreas vegetativas de aroeira-vermelha (*Schinus terebinthifolius* Raddi, Anacardiaceae). *Revista Brasileira De Plantas Medicinai*s, 17(1), 26–35. https://doi.org/10.1590/1983-084X/11_090, 2015.
- BAELL, JB & HOLLOWAY, GA New substructure filters for removal of pan assay interference compounds (PAINS) from screening libraries and for their exclusion in bioassays. *J. Med. Chem.* **53**, 2719-2740 (2010).
- BAKHLE YS, BARKER JE, ANDERSON J, TREASURE T, PIPER PJ. Reciprocal inhibition of nitric oxide and prostacyclin synthesis in human saphenous vein. *Br J Pharmacol.* Jun;118(3):643-8. doi: 10.1111/j.1476-5381.1996.tb15449.x. PMID: 8762089; PMCID: PMC1909713, 1996.
- BARBOSA, CLÁUDIO, L. ET AL. Seasonal variation in the composition of volatile oils from *Schinus terebinthifolius* RADDI *Quim. Nova.* v 30, N. 8, 2007.
- BARTH, E.F., PINTO, L.S., DILELI, P., BIAVATTI, D.C., SILVA, Y.L., BORTOLUCCI, W., GAZIM, Z.C., TAKEMURA, O.S., ROMAGNOLO, M.B. and LAVERDE-JÚNIOR, A., Biological screening of extracts from leaf and stem bark of *Croton floribundus* Spreng. (Euphorbiaceae). *Brazilian Journal of Biology = Revista Brasileira de Biologia*, vol. 78, no. 4, pp. 601-608. <http://dx.doi.org/10.1590/1519-6984.166522> PMid:29319750, 2018.
- BERMAN, H. M., WESTBROOK, J., FENG, Z., GILLILAND, G., BHAT, T. N., WEISSIG, H., ... & BOURNE, P. E. The protein data bank. *Nucleic acids research*, 28(1), 235-242, 2000.

BRAGA RC, ALVES VM, SILVA MF, MURATOV E, FOURCHES D, TROPSHA A, ANDRADE CH. Tuning HERG out: antitarget QSAR models for drug development. *Curr Top Med Chem*. 2014;14(11):1399-415. doi: 10.2174/1568026614666140506124442. PMID: 24805060; PMCID: PMC4593700.

BRAGA, R.C., ALVES, V.M., SILVA, M.F.B., MURATOV, E., FOURCHES, D., LIÃO, L.M., TROPSHA, A. AND ANDRADE, C.H. (2015), Pred-hERG: A Novel web-Accessible Computational Tool for Predicting Cardiac Toxicity. *Mol. Inf.*, 34: 698-701. <https://doi.org/10.1002/minf.201500040>

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE (MS). Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Política nacional de práticas integrativas e complementares no SUS: PNPIC-SUS 2006. [acessado 2022 23 março]. Disponível em: <http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/pnpic.pdf>

BRASIL. Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos. Brasília: Ministério da Saúde; 60 p, 2007.

BRENK, R. ET AL. Lessons learned from assembling screening libraries for drug discovery for neglected diseases. *ChemMedChem* 3, 435–444 (2008).

BRUNE K, HINZ B. Selective cyclooxygenase-2 inhibitors: similarities and differences. *Scand J Rheumatol*; 33:1-6, 2004.

BORGES, LARISSA & AMORIM, VÍCTOR. Metabólitos secundários de plantas - secondary plant metabolites. *Revista Agrotecnologia - Agrotec*. 11. 54-67, 2020.

CARDOSO, T. B., PIZZARI, T., KINSELLA, R., HOPE, D., & COOK, J. L. Current trends in tendinopathy management. *Best practice & research. Clinical rheumatology*, 33(1), 122–140. <https://doi.org/10.1016/j.berh.2019.02.001>, 2019.

CASTRO-ALVAREZ, A.; COSTA, A.M.; VILARRASA, J. The Performance of Several Docking Programs at Reproducing Protein–Macrolide-Like Crystal Structures. *Molecules*, 22, 136. <https://doi.org/10.3390/molecules22010136>, 2017.

-
- CHISARI E, REHAK L, KHAN WS, MAFFULLI N. Tendon healing in presence of chronic low-level inflammation: a systematic review. *Br Med Bull.* Dec 11;132(1):97-116. doi: 10.1093/bmb/ldz035. PMID: 31838495, 2019.
- CLÁUDIO, L. et al.. Seasonal variation in the composition of volatile oils from *Schinus terebinthifolius* RADDI *Quim. Nova.* v 30, N. 8, 2007
- DAINA, A. & ZOETE, V. A BOILED-Egg To Predict Gastrointestinal Absorption and Brain Penetration of Small Molecules. *ChemMedChem* **11**, 1117–1121 (2016).
- DAINA, A. ET AL. SwissADME: uma ferramenta web gratuita para avaliar a farmacocinética, a semelhança com drogas e a facilidade de química medicinal de pequenas moléculas. *ciência Rep.* **7**, 42717; doi: 10.1038/srep42717 (2017).
- DANNENBERG, G. DA S. ET AL. Essential oil from pink pepper (*Schinus terebinthifolius* Raddi): Chemical composition, antibacterial activity and mechanism of action. *Food Control*, v. 95, p. 115–120, 1 jan. 2019.
- DONG, J. ET AL. Admetlab: A platform for systematic ADMET evaluation based on a comprehensively collected ADMET database. *Journal of Cheminformatics*, v. 10, n. 1, 2018.
- DUNN, W. J.. Molar refractivity as an independent Variable in quantitative structure-activity studies. *Eur. J Med Chem*, **12**, 109, 1977.
- DUTRA, RAFAEL C ET AL. “Medicinal plants in Brazil: Pharmacological studies, drug discovery, challenges and perspectives.” *Pharmacological research* vol. 112: 4-29. doi:10.1016/j.phrs.2016.01.021, 2016
- EGAN, WJ, MERZ, KM & BALDWIN, JJ Previsão de Absorção de Drogas Usando Estatística Multivariada. *J. Med. Chem.* **43**, 3867–3877 (2000).

ERTL, P., SCHUFFENHAUER, A. Estimation of synthetic accessibility score of drug-like molecules based on molecular complexity and fragment contributions. *J Cheminform* 1, 8 . <https://doi.org/10.1186/1758-2946-1-8>, 2009.

FÁTIMA V. A., M. de et al. Análise da atividade farmacológica e toxicológica do monoterpene borneol com finalidade odontológica: um estudo in silico. *Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research-BJSCR*, v. 27, n. 3, p. 12–17, 2019.

FERREIRA, L. L. G.; ANDRICOPULO, A. D. ADMET modeling approaches in drug Discovery *Drug Discovery Today*, 2019.

FILIMONOV, D. A., Lagunin, A. A., Glorizova, T. A., Rudik, A. V., Druzhilovskii, D. S., Pogodin, P. V., & Poroikov, V. V. Prediction of the biological activity spectra of organic compounds using the PASS online web resource. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*, 50(3), 444-457, 2014.

FIGUEIREDO, K. A. et al. “Antileishmanial activity of Riparin structural analogs of *Aniba riparia*: Biological evaluation, in silico Adme-Tox, and molecular docking.” *Experimental parasitology* vol. 236-237 108257. doi:10.1016/j.exppara.2022.108257, 2022.

GASTEIGER, JOHANN; MARSILI, Mario. Iterative partial equalization of orbital electronegativity—a rapid access to atomic charges. *Tetrahedron*, v. 36, n. 22, p. 3219-3228, 1980.

GHOSE, AK, VISWANADHAN, VN & WENDOLOSKI, JJ Uma abordagem baseada em conhecimento na concepção de bibliotecas de química combinatória ou medicinal para a descoberta de medicamentos. 1. Uma caracterização qualitativa e quantitativa de bases de dados de medicamentos conhecidos. *J Comb. Chem.* 1, 55–68 (1999).

GIRGIS, B., & DUARTE, J. A. Physical therapy for tendinopathy: An umbrella review of systematic reviews and meta-analyses. *Physical therapy in sport: official journal*

of the Association of Chartered Physiotherapists in Sports Medicine, 46, 30–46. <https://doi.org/10.1016/j.ptsp.2020.08.002>, 2020.

GUEDES, I. A., Krempser, E., & Dardenne, L. E. DockThor 2.0: a Free Web Server for Protein-Ligand Virtual Screening. XIX SBQT–Simpósio Brasileiro de Química Teórica, 2017.

GUIMARÃES, A. G., SCOTTI, L., SCOTTI, M. T., MENDONÇA, J. F. J., MELO, N. S., ALVES, R. S., ET AL. (2014). Evidence for the involvement of descending pain-inhibitory mechanisms in the attenuation of cancer pain by carvacrol aided through a docking study. *Life Sic.* 116, 8–15. doi: 10.1016/j.lfs.2014.08.020

GURUNGA, A.B., BHATTACHARJEEA, A., ALI, M.A., Exploring the physicochemical profile and the binding patterns of selected novel anticancer himalayan plant derived active compounds with macromolecular targets. *Inform. Med. Unlocked* 5, 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.imu.2016.09.004>, 2016.

HEO, L., Park, H., & Seok, C. GalaxyRefine: Protein structure refinement driven by side-chain repacking. *Nucleic acids research*, 41(W1), W384-W388, 2013.

HILÁRIO, M. O. E.; TERRERI, M. T.; LEN, C. A. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs: Cyclooxygenase 2 inhibitors *Jornal de Pediatria*, nov. 2006.

ISAH, T. Estresse e respostas de defesa na produção de metabólitos secundários de plantas. *Biol. Res.* 2019, 52, 39.

JARDIM, P. M. *Plantas Mediciniais E Fitoterápicos – Guia Rápido Para A Utilização De Algumas Espécies Vegetais (Vol. 2)*. Brasília, DF, Brasil: Universidade de Brasília, 2016.

JARRAHPOUR, A., MOTAMEDIFAR, M., ZAREI, M., et al., 2010. Petra, Osiris, and Molinspiration together as a guide in drug design: predictions and correlation structure/ antibacterial activity relationships of new n-sulfonyl monocyclic β -lactams. *Phosphorus Sulfur. Silicon. Relat. Elem.* 185, 1563–5325.

-
- KENNY, P.W. The nature of ligand efficiency. *J Cheminform* 11, 8 (2019).
<https://doi.org/10.1186/s13321-019-0330-2>
- KIM, S., CHEN, J., CHENG, T., GINDULYTE, A., HE, J., HE, S., & BOLTON, E. E..
PubChem in 2021: new data content and improved web interfaces. *Nucleic acids research*, 49(D1), D1388-D1395, 2021.
- KORTBEEK, R. W. J.; VAN DER GRAGT, M.; BLEEKER, P. M. Endogenous plant metabolites against insects. *European Journal of Plant Pathology*, v. 154, n. 1, p. 67-90, 2019.
- KUNTZ, I.D.; BLANEY, J.M.; OATLEY, S.J.; LANGRIDGE, R.; FERRIN, T.E. A Geometric Approach to Macromolecule-Ligand Interactions. *Journal of molecular biology* 1982, 161, 269–288.
- LAGORCE D, DOUGUET D, MITEVA MA, VILLOUTREIX BO. Computational analysis of calculated physicochemical and ADMET properties of protein-protein interaction inhibitors. *Sci Rep.* 2017 Apr 11; 7:46277. doi: 10.1038/srep46277. PMID: 28397808; PMCID: PMC5387685.
- LASKOWSKI R A, SWINDELLS M B LigPlot+: multiple ligand-protein interaction diagrams for drug discovery. *J. Chem. Inf. Model.*, 51, 2778-2786. [PubMed id: 21919503], 2011.
- LEACH, ANDREW R.; GILLET, VALERIE J. An introduction to chemoinformatics. Springer, 2007.
- LEAL, S. S., UCHÔA, V. T., FIGUERÊDO-SILVA, J., SOARES, R. B., MOTA, D. M., ALENCAR, R. C. DE., MAIA FILHO, A. L. M., SANT'ANA, A. E. G., & BELTRAME JUNIOR, M. Eficácia da fonoforese com *Ximenia Americana L.* na inflamação de tendão de ratos. *Revista Brasileira De Medicina Do Esporte*, 22(5), 355–360.
<https://doi.org/10.1590/1517-869220162205156899>, 2016.

-
- LEE, S. K., LEE, I. H., KIM, H. J., CHANG, G. S., CHUNG, J. E., & NO, K. T. The PreADME Approach: Web-based program for rapid prediction of physico-chemical, drug absorption and drug-like properties. EuroQSAR 2002 Designing Drugs and Crop Protectants: processes, problems and solutions, 2003, 418-420, 2003.
- LIMA, J. J. F. – As plantas na história da dor. Revista da sociedade portuguesa de Anestesiologia. Vol 22, nº 4, 126-131, 2013.
- LIPINSKI, C.A., 2016. Rule of five in 2015 and beyond: target and ligand structural limitations, ligand chemistry structure and drug discovery project decisions. Adv. Drug Deliv. Rev. 101, 34–41. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2016.04.029>.
- LOPES, K. S., H. G. SOUSA, F. A. S. SILVA FILHO, E. R. SILVA NETA, S. G. LIMA, M. S. ROCHA, R. B. MARQUES, C. L. S. COSTA, A. N. OLIVEIRA, D. G. P. BEZERRA, ET AL. 2022. Identification of bioactive compounds and cytogenotoxicity of the essential oil from the leaves of *Croton heliotropiifolius* Kunth. J. Toxicol. Environ. Health A 85:1002–18. doi:10.1080/15287394.2022.2146618.
- LORENZI, H. & MATOS, F.J.A. Plantas Medicinais no Brasil: nativas e exóticas. 2ª ed. Nova Odessa, Instituto Plantarum, 2008.
- MAGGIERI, M. G. A.; SILVA, B. G.; FILETI, A. M. F. Influência Do Pré- Tratamento Da Matéria Prima Na Obtenção De Óleo Essencial De Óleo De Aroeira-Vermelha (*Schinus Terebinthifolius* Raddi). Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica - vol. 1 num. 3, 2015.
- MAIA, M. DO C. R. et al. Propriedades terapêuticas da espécie *Schinus terebinthifolius* Raddi (aroeira-vermelha). Revista Eletrônica Acervo Saúde, v. 13, n. 4, 2021.
- MARMITT, D. R, GOETTERT C., SILVA, A. M. Plantas Medicinais da RENISUS Com Potencial Anti-inflamatório: Revisão Sistemática Em Três Bases de Dados Científicas. Medicinal Plants RENISUS With Potential Anti-inflammatory:

-
- Systematic Review In Three Scientific Databases. *Revista Fitos.* 9. 73-144. 10.5935/2446-4775.20150011, 2015.
- MARTIN YC. A bioavailability score. *J Med Chem.* 2005 May 5;48(9):3164-70. doi: 10.1021/jm0492002. PMID: 15857122, 2005.
- MATOS LC, MARTINS B. Hepatites tóxicas: revisão de literatura. *Revista da Sociedade Portuguesa de Medicina Interna.*;12(4):239-58, 2005.
- MEAD MP, GUMUCIO JP, AWAN TM, MENDIAS CL, SUGG KB. Pathogenesis and Management of Tendinopathies in Sports Medicine. *Transl Sports Med.* Jan;1(1):5-13. doi: 10.1002/tsm2.6. Epub 2017 Dec 19. PMID: 31131372; PMCID: PMC6530902, 2018.
- MEGRAJ, K.V.K.; RAJU, K.; BALARAMAN, R.; MEENAKSHISUNDARAM, K.. Biological activities of some Indian medicinal plants. *Journal of Advanced Pharmacy Education & Research*, v.1, p.12-44, 2011.
- MENDES, A. Avaliação em larga escala do diclofenaco colestiramina em lesões traumáticas agudas. *Revista Brasileira de Botânica*, v.58, p.249- 256, 2001.
- MENG XUAN-YU, ZHANG HONG-XING, MEZEI MIHALY AND CUI MENG, Molecular Docking: A Powerful Approach for Structure-Based Drug Discovery, *Current Computer-Aided Drug Design*; 7 (2). <https://dx.doi.org/10.2174/157340911795677602>, 2011.
- MOREIRA, Flávia V. et al. Chemical composition and cardiovascular effects induced by the essential oil of *Cymbopogon citratus* DC. Stapf, Poaceae, in rats. *Rev. bras. farmacogn.*, Curitiba, v. 20, n. 6, p. 904-909, 2010.
- MORGON, N. H; COUTINHO, K. Métodos de Química Teórica e Modelagem Molecular. Livraria de Física, São Paulo, 2007.

- MORRIS, GARRETT M et al. "AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility." *Journal of computational chemistry* vol. 30,16: 2785-91. doi:10.1002/jcc.21256, 2009.
- MORRIS, G.M., GOODSELL, D.S., HALLIDAY, R.S., HUEY, R., HART, W.E., BELEW, R.K. AND OLSON, A.J. Automated docking using a Lamarckian genetic algorithm and an empirical binding free energy function. *J. Comput. Chem.*, 19: 1639-1662. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-987X\(19981115\)19:14<1639::AID-JCC10>3.0.CO;2-B](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-987X(19981115)19:14<1639::AID-JCC10>3.0.CO;2-B) ,1998.
- MUEGGE, I., HEALD, SL & BRITTELLI, D. Critérios de seleção simples para substâncias químicas semelhantes a drogas. *J. Med. Chem.* **44**, 1841–1846 ,2001.
- NASCIMENTO, L. D. E. S. et al. Effect of norbixin-based poly(Hydroxybutyrate) membranes on the tendon repair process after tenotomy in rats. *Acta Cirurgica Brasileira*, v. 34, n. 11, 1 nov. 2019.
- NETO, RIBEIRO J. A. et al. Using the plants of Brazilian Cerrado for wound healing: from traditional use to scientific approach. *Journal of ethnopharmacology*, v. 260, p. 112547, 2020.
- OLIVEIRA, L.F.M.; OLIVEIRA JR, L.F.G.; SANTOS, M.C.; NARAIN, N.; LEITE NETA, M.T.S. Tempo de destilação e perfil volátil do óleo essencial de aroeira da praia (*Schinus terebinthifolius*) em Sergipe. *Rev. Bras. Pl. Med.*, Campinas, v.16, n.2, p.243-249, 2014.
- OMS. Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014-2023. Organização Mundial de Saúde, 2014.
- PACHECO, E. B. A.; MARTINS, D. S.; ROCHA, M. P. Atividade antibacteriana in vitro de extratos etanólicos e aquosos de *Schinus terebinthifolia* (aroeira-vermelha) e *Cymbopogon nardus* (citronela) frente à *Staphylococcus epidermidis* e *Staphylococcus aureus*: In

vitro antibacterial activity of ethanolic and aqueous extracts of *Schinus terebinthifolia* (red pepper) and *Cymbopogon nardus* (citronella) against *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus*. *Brazilian Journal of Health Review*, [S. l.], v. 5, n. 6, p. 24872–24888, 2022. DOI: 10.34119/bjhrv5n6-236.

PANDINI, J.A et al. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant potential of the essential oil of *Guarea kunthiana* A. Juss. *Braz. J. Biol.*, v. 78, n. 1, 2018.

PANTSAR, T.; POSO, A. Binding Affinity via Docking: Fact and Fiction. *Molecules* 2018, 23, 1899.

PERES, T. B. Noções básicas de cromatografia. *Biológico*, São Paulo, vol. 64(2), p. 227-229, 2002.

PEREIRA, B. F., AZÊDO, G. M., VENTOCILLA, N. V. I., MARTINS, P. G., & ALMEIDA, A. C. G. DE. Efeitos adversos associados ao uso excessivo de Diclofenaco: revisão sistemática: Adverse effects associated with overuse of diclofenac: a systematic review. *Brazilian Journal of Health Review*, 5(6), 24937–24951. <https://doi.org/10.34119/bjhrv5n6-241>, 2022.

PEREIRA, JC; MARTINS, AB.; ROCHA, MCF.; CAVALCANTE JÚNIOR, SM; FEITOSA, CM. Espécies medicinais do Brasil com potencial antiinflamatório ou antioxidante: uma revisão. *Investigação, Sociedade e Desenvolvimento*, [S. l.] , v. 10, n. 7, pág. e10310716196, DOI: 10.33448/rsd-v10i7.16196, 2021.

PETTERSEN EF, GODDARD TD, HUANG CC, MENG EC, COUCH GS, CROLL TI, MORRIS JH, FERRIN TE. UCSF ChimeraX: Structure visualization for researchers, educators, and developers. *Protein Sci.* Jan;30(1):70-82. doi: 10.1002/pro.3943. Epub 2020 Oct 22. PMID: 32881101; PMCID: PMC7737788, 2021.

- PIMENTEL, VINÍCIUS DUARTE ET AL. Análise toxicológica e farmacocinética in silico de metabólito secundário isolado de *Anadenanthera colubrina*. In: Anais do Encontro do Programa De Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, 2017, Anais eletrônicos... Campinas, Galoá, 2017. Disponível em: <<https://proceedings.science/ppgcf/trabalhos/analise-toxicologica-e-farmacocinetica-in-silico-de-metabolito-secundario-isolad?lang=pt-br>> Acesso em: 27 Maio. 2023.
- PINHO, G. P.; QUEIROZ, M. E. I. R.; NEVES, A. A.; SILVÉRIO, F. O. Efeito de matriz na quantificação de agrotóxicos por cromatografia gasosa. *Quim. Nova*, Vol. 32, No. 4, 987-995, **2009**.
- PONTES, F. C. et al. Antifungal and antioxidant activities of mature leaves of *Myrcia splendens* (Sw.) DC. *Brazilian Journal of Biology*, v. 79, n. 1, p. 127–132, 2019.
- POTTS, R. O. & GUY, R. H. Predicting Skin Permeability. *Pharm. Res.* **09**, 663–669 (1992).
- RAMOS, RICARDO MARTINS. Análise computacional da interação da isoniazida com isoformas da arilamina n-acetiltransferase de *m. tuberculosis* (tbna1) e do metabólito acetilhidrazina com isoformas da enzima citocromo p450 2e1 (cyp2e1) humana. 133 f. Tese. (Doutor em Genética e Toxicologia Aplicada. Ulbra. Canoas-RS, 2012).
- REGIS FILHO GI, MICHELS G, SELL I. Lesões por esforços repetitivos/distúrbios osteomusculares relacionados ao trabalho em cirurgiões-dentistas. *Rev Bras Epidemiol.* 2006;9(3):346-59.
- RIBEIRO, H. P. Lesões por Esforços Repetitivos (LER): uma doença emblemática. *Cadernos De Saúde Pública*, 13, S85–S93. <https://doi.org/10.1590/S0102-311X1997000600008>, 1997.
- RIBEIRO, S. M.; BONILLA, O. H.; LUCENA, E. M. P. Influência da sazonalidade e do ciclo circadiano no rendimento e composição química dos óleos essenciais de

Croton spp. da Caatinga. *Iheringia, Série Botânica.*, 73(1), 31–38. 30 de maio de **2018**.

RITCHIE, TJ, MACDONALD, SJF, PEACE, S., PICKETT, SD & LUSCOMBE, CN
Increasing the ability to develop small molecule drugs in suboptimal chemical
space. *Med. Chem. Commun.* **4**, 673 (2013).

ROBBERS, J.E.; SPEEDIE, M.K.; TYLER, V.E. *Farmacognosia e
Farmacobiotechnologia*, 1. ed. São Paulo: Editorial Premier, 372p, 1997.

ROCHA, JEFFERSON A. ET AL. Computational quantum chemistry, molecular
docking, and ADMET predictions of imidazole alkaloids of *Pilocarpus microphyllus*
with schistosomicidal properties. *PloS one*, v. 13, n. 6, p. e0198476, 2018.

ROMERO RB, ROMERO AL. Inibição de Ciclooxygenases 1 (COX-1) e 2 (COX-2)
por Monoterpenos: um Estudo in Silico. *J. Health Sci.*, 2015. [Internet].
Disponível em:
<https://journalhealthscience.pgsscogna.com.br/JHealthSci/article/view/373>

ROY, K.; KAR, S.; DAS, R. N. Chemical Information and Descriptors. In: ROY, K.;
KAR, S.; DAS, R. N; *Understanding the Basics of QSAR for Applications in
Pharmaceutical Sciences and Risk Assessment*. Kolkata: Elsevier, 2015. p. 47-79.
Disponível em: <https://books.google.com.br/books?id=bkFOBQAAQBAJ&pg=PA47&g=PA47&dq=Chapter+2++Chemical+Information+and+Descriptors&source=bl&ots=qhhTq9ezx7&sig=ACfU3U17cW8pGEs2Vjrw4sU9X5ZS6VxhdQ&hl=ptBR&sa=X&ved=2ahUKEwjqoouP2pPpAhUZILkGHTqHDSwQ6AEwBHoECAsQAQ#v=onepage&q=Chapter%20%20Chemical%20Information%20and%20Descriptors&f=false>. Acesso em: 22 mar. 2020.

SAÚDE, M. DA. *Relação Nacional de Medicamentos Essenciais 2020*. .

SANT'ANNA, C. M. R. Glossário de termos usados no planejamento de fármacos
(recomendações da IUPAC para 1997). *Química Nova*, Rio de Janeiro, v. 25, n.3,
p. 505-512, 2002. Disponível em:

https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&p

id=S0100-

40422002000300027. Acesso em: 21 mar. 2020.

SANTOS, L. H. Docagem molecular: em busca do encaixe perfeito e acessível. In: BIOINFO - Revista Brasileira de Bioinformática e Biologia Computacional, Alfahelix, 2021.

SANTOS, M. R. A.; LIMA, R. A.; SILVA, A. G.; LIMA, D. K. S.; SALLET, L. A. P.; TEIXIRA, C. A. D.; FACUNDO, V. A. Composição química e atividade inseticida do óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) sobre a broca-do-café (*Hypothenemus hampei*) Ferrari. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, v. 15, no. 4, supl. 1, 2013.

SIMÕES, C.M.O. et al. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 5. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFSC, 1102p, 2004.

SCOTT A, HUISMAN E, KHAN K. Conservative treatment of chronic Achilles tendinopathy. CMAJ. 2011; 183 (10): 1159–1165, 2011.

SHAROM, FJ ABC multi-drug transporters: structure, function, and role in chemoresistance. *Farmacogenômica* 9, 105–127, 2008.

SHARIFI-RAD J, Sureda A, Tenore GC, et al. Biological Activities of Essential Oils: From Plant Chemoecology to Traditional Healing Systems. *Molecules*. ;22(1):70. Published 2017 Jan 1. doi:10.3390/molecules22010070, 2017.

SILVA, ÁDILUS D. F. DA; FERREIRA, G. L.; DIAS, A. J. A.; BARROS, N. B. DE; SILVA, Z. P. do N. Uso e eficácia de plantas medicinais com ações em doenças cardiovasculares e em Diabetes Tipo 2: Panax Ginseng, Curcuma Longa, Adonis Vernalis/ Use and effectiveness of medicinal plants action on cardiovascular diseases and Type 2 Diabetes: Panax Ginseng, Curcuma Longa, Adonis Vernalis. *Brazilian Journal of Development*, [S. l.], v. 7, n. 9, p. 86526–86549 DOI: 10.34117/bjdv7n9-016, 2021.

-
- SILVA, R. H. M. ET AL. Antinociceptive activity of *Borreria verticillata*: In vivo and in silico studies. *Frontiers in Pharmacology*, v. 8, n. MAY, 22 maio 2017.
- SILVA, P. T.; AZEVEDO, F. R. P.; DIAS, F. M. F.; LIMA, M. C. L.; RODRIGUES, T. H. S.; SOUZA, E. B.; BANDEIRA, P. N.; SANTOS, H. S. Composição Química do Óleo Essencial Extraído das Folhas dos Indivíduos Macho e Fêmea e Frutos de *Schinus terebenthifolius*. *Rev. Virtual Quim.* |Vol 11| |No. 1| |180-189. **2019**.
- SILVA, R. O.; EVANGELISTA, F. C. G.; SABINO, A. P.; DA SILVA, L. A. M.; DE OLIVEIRA, F. F.; DE OLIVEIRA, R. A. Cytotoxicity Assessment of *Siparuna cymosa* Essential Oil in the Presence of Myeloid Leukemia Cells. *Rev. Virtual Quim.*, **2020**, 12 (6), 1381-1388.
- SILVEIRA, J. C., BUSATO, N., COSTA, A., & COSTA JUNIOR, E. Levantamento e análise de métodos de extração de óleos essenciais. *Enciclopédia Biosfera*, 8(15), 2012.
- SOBANSKA, A. W. W., ROBERTSON, J., & BRZEZIŃSKA, E. (2021). RP-18 TLC Chromatographic and Computational Study of Skin Permeability of Steroids. *Pharmaceuticals*, 14(7), 600.
- SOLIS FJ, WETS RJ-B. Minimization by Random Search Techniques. *Mathematics of Operations Research* ;6(1):19-30. Available from: <http://dx.doi.org/10.1287/moor.6.1.19>, 1981.
- SUNGHWAN KIM ET AL, PubChem Substance and Compound databases, **Nucleic Acids Research** , Volume 44, Edição D1, 4 de janeiro de 2016, Páginas D1202–D1213, <https://doi.org/10.1093/nar/gkv951>
- SZAKÁCS, G., VÁRADI, A., OZVEGY-LACZKA, C. & SARKADI, B. O papel dos transportadores ABC na absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade de drogas (ADME-Tox). *Descoberta de Drogas Hoje* **13** , 379–393 (2008).

-
- TAVARES, L. C. "QSAR: A Abordagem De Hansch". Química Nova, vol. 27, no. 4, Sociedade Brasileira de Química, July 2004, pp. 631–39, doi:10.1590/S0100-40422004000400018.
- THOMSEN, R.; CHRISTENSEN, M. H. Supporting Information MolDock: A New Technique for High-Accuracy Molecular Docking. J Med Chem. Jun 1, 2006.
- TIAN, S. et al. A aplicação de previsões de semelhança de drogas in silico na pesquisa farmacêutica. Adv Drug Deliv Rev 86, 2–10, 2015.
- TOMAZI, E. Z., RIBEIRO, R. T. S., SCHWAMBACH, J., Potencial Fungitóxico dos óleos Essenciais de *Schinus molle* L. e *Schinus terebinthifolius* Raddi contra fungos patogênicos do tomateiro. Revista Brasileira de Agroecologia. 12. Caxias do Sul – RS. 2017.
- THOMSEN, R., & CHRISTENSEN, M. H. MolDock: a new technique for high-accuracy molecular docking. Journal of medicinal chemistry, 49(11), 3315–3321. <https://doi.org/10.1021/jm051197e>, 2006.
- TROTT, O., & Olson, A. J. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. Journal of computational chemistry, 31(2), 455-461, 2010.
- ULIANA, M. P.; FRONZA, M.; DA SILVA, A. G.; VARGAS, T. S.; DE ANDRADE, T. U.; SCHERER, R. Composition and biological activity of Brazilian rose pepper (*Schinus terebinthifolius* Raddi) leaves. Industrial Crops and Products, v.83, p. 235-240, 2016.
- VAVOUGIOS, G. D. ET AL. Novel candidate genes of the PARK7 interactome as mediators of apoptosis and acetylation in multiple sclerosis: An in silico analysis. Multiple Sclerosis and Related Disorders, v. 18, p. 8-14, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.msard.2017.10.013>

-
- VEBER, DANIEL F ET AL. "Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates." *Journal of medicinal chemistry* vol. 45,12 2615-23. doi:10.1021/jm020017n, 2002.
- VEIGA JUNIOR, V. F., PINTO, A. C., & MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura? *Química Nova*, 28(3), 519–528. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422005000300026>, 2005.
- VERGINE, M.; NICOLI, F.; SABELLA, E.; APRILE, A.; DE BELLIS, L.; LUVISI, A. Metabólitos Secundários em *Xylella fastidiosa* – Interação Planta. *Patógenos* 2020, 9, 67.
- VERLI, H. *Bioinformática: da biologia à flexibilidade molecular*. 2014.
- WALLACE, AC, LASKOWSKI, RA, & THORNTON, JM. LIGPLOT: um programa para gerar diagramas esquemáticos de interações proteína-ligante. "Engenharia de proteínas, design e seleção", 8 (2), 127-134. doi:10.1093/protein/8.2.127, 1995.
- WARING, M.J. Lipophilicity in drug discovery. *Expert Opinion On Drug Discovery*, Cheshire, v.5, n.3, p.235-248, 2010. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22823020/>. Acesso em: 05 nov. 2020.
- WEBB, B., & Sali, A. Protein structure modeling with MODELLER. In *Functional genomics* (pp. 39-54). Humana Press, New York, NY, 2017.
- VISHWAKARMA, RAHUL KUMAR AAYSHA NEGI, DEVENDRA SINGH NEGI ET AL. Abortitristoside A and Desrhamnosylverbanscoside: The Potential COX-2 Inhibitor From the Leaves of *Nyctanthes Arbor-tristis* as Anti-inflammatory Agents Based on the in-vitro Assay, Molecular Docking and ADMET Prediction, 15 February, PREPRINT (Version 1) available at Research, 2022.
- WOUTERS, O. J.; MCKEE, M.; LUYTEN, J. Estimated Research and Development Investment Needed to Bring a New Medicine to Market, 2009-2018 *JAMA* -

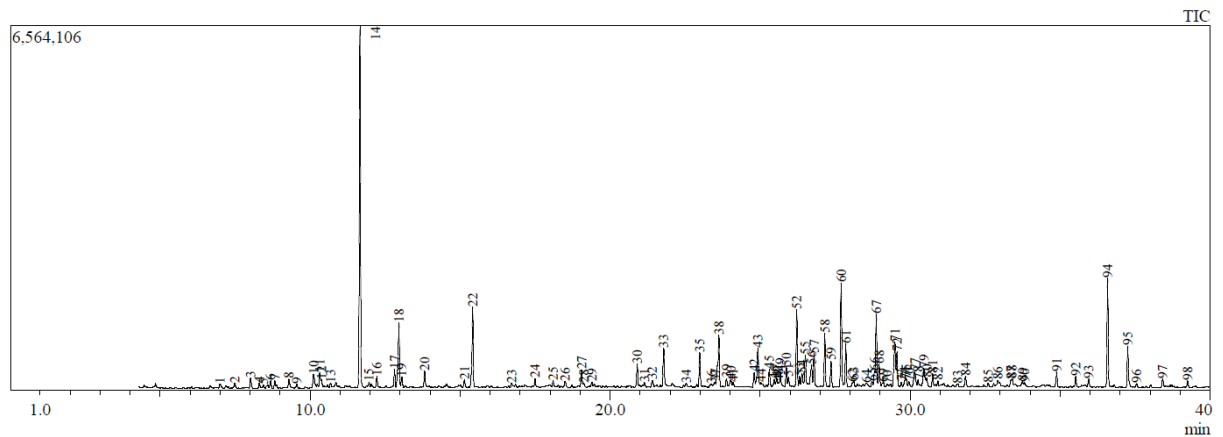
Journal of the American Medical Association American Medical Association,, 3
mar. 2020.

YOON WJ, KIM SS, OH TH, LEE NH, HYUN CG. Torreyia nucifera essential oil
inhibits skin pathogen growth and lipopolysaccharide-induced inflammatory
effects. Int J Pharmacol 2009; 5:37-43.

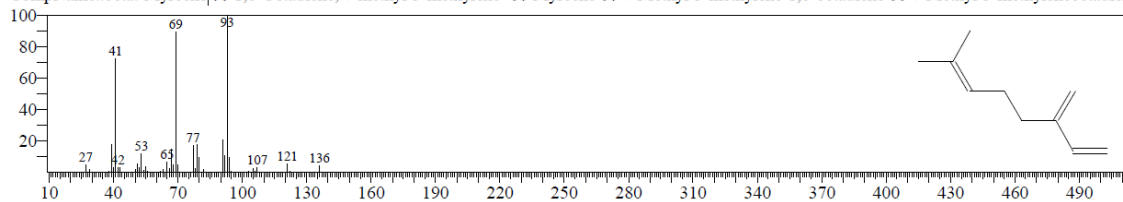
ZARGHI A, ARFAEI S. Selective COX-2 Inhibitors: A Review of Their Structure-
Activity Relationships. Iran J Pharm Res. Fall;10(4):655-83. PMID: 24250402;
PMCID: PMC3813081, 2011.

Anexo A

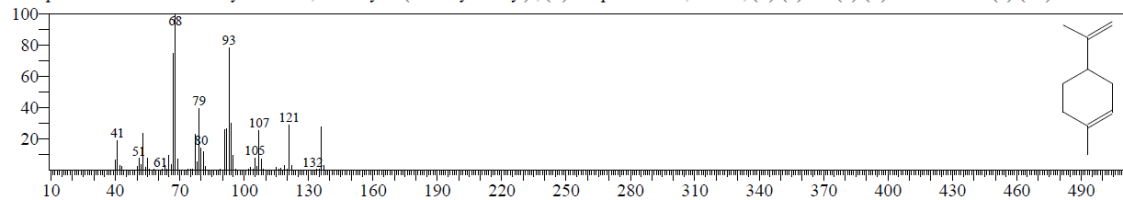
ANEXO A – Cromatograma do OE da *Schinus terebentifolius* Raddi obtido por Espectrometria de Massa.



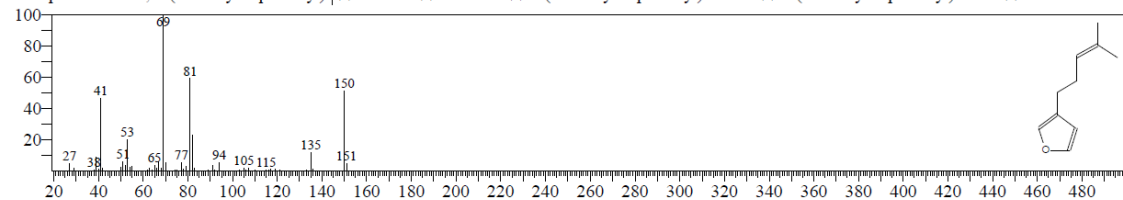
Hit#:1 Entry:6820 Library:NIST14s.lib
 SI:96 Formula:C10H16 CAS:123-35-3 MolWeight:136 RetIndex:958
 CompName:beta.-Myrcene 1,6-Octadiene, 7-methyl-3-methylene- Myrcene 7-Methyl-3-methylene-1,6-octadiene 7-Methyl-3-methyleneoctadiene



Hit#:1 Entry:6793 Library:NIST14s.lib
 SI:95 Formula:C10H16 CAS:5989-27-5 MolWeight:136 RetIndex:1018
 CompName:D-Limonene Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-, (R)- p-Mentha-1,8-diene, (R)-(+)- (+-)-Limonene (+)-(4R)-Limonene

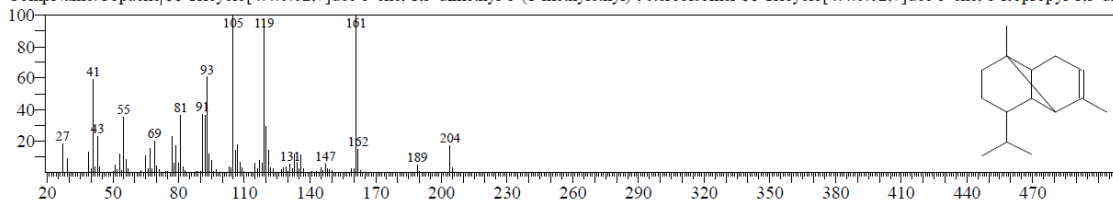


Hit#:1 Entry:15732 Library:NIST14.lib
 SI:93 Formula:C10H14O CAS:539-52-6 MolWeight:150 RetIndex:1125
 CompName:Furan, 3-(4-methyl-3-pentenyl)- Perillene Perillene 3-(4-Methyl-3-pentenyl)furan # 3-(4-Methyl-3-pentenyl)-furan



Hit#:4 Entry:19192 Library:NIST14s.lib

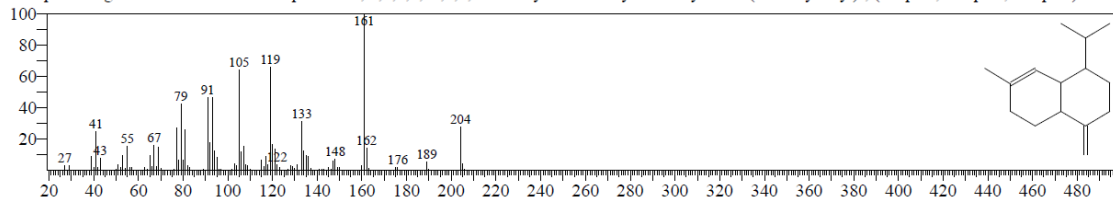
SI:79 Formula:C15H24 CAS:3856-25-5 MolWeight:204 RefIndex:1221

CompName:Copaene\$\$\$ Tricyclo[4.4.0.0^{2,7}]dec-3-ene, 1,3-dimethyl-8-(1-methylethyl)-, stereoisomer \$\$\$ Tricyclo[4.4.0.0^{2,7}]dec-3-ene, 8-isopropyl-1,3-di-

Hit#:1 Entry:19197 Library:NIST14s.lib

SI:97 Formula:C15H24 CAS:30021-74-0 MolWeight:204 RefIndex:1435

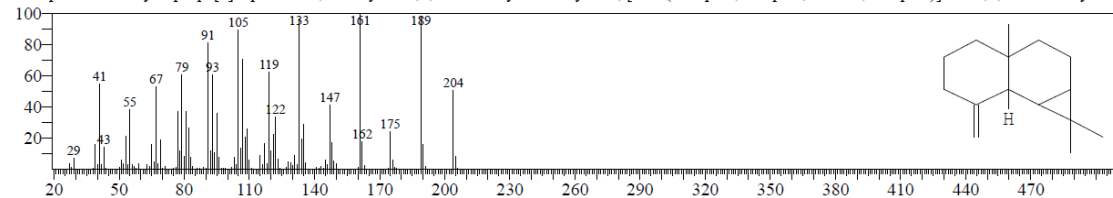
CompName:gamma-Muurolene\$\$\$ Naphthalene, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro-7-methyl-4-methylene-1-(1-methylethyl)-, (1.alpha.,4a.alpha.,8a.alpha.)- \$\$\$ 1-



Hit#:1 Entry:19208 Library:NIST14s.lib

SI:91 Formula:C15H24 CAS:20071-49-2 MolWeight:204 RefIndex:1398

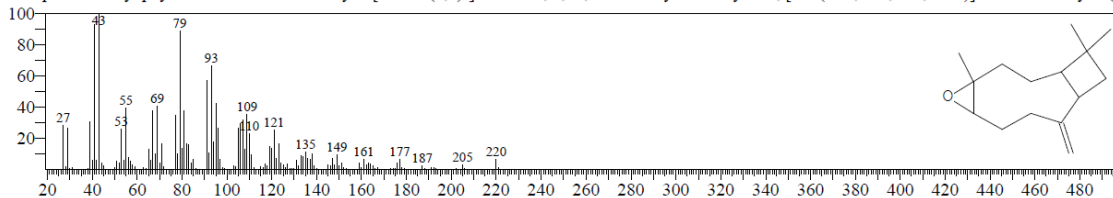
CompName:1H-Cyclopropa[a]naphthalene, decahydro-1,1,3a-trimethyl-7-methylene-, [1aS-(1a.alpha.,3a.alpha.,7a.beta.,7b.alpha.)]- \$\$\$ 1,1,3a-Trimethyl-7-m-



Hit#:1 Entry:62421 Library:NIST14.lib

SI:86 Formula:C15H24O CAS:1139-30-6 MolWeight:220 RefIndex:1507

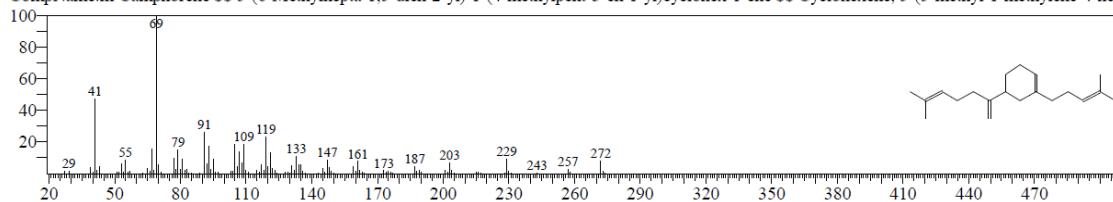
CompName:Caryophyllene oxide \$\$\$ 5-Oxatricyclo[8.2.0.0(4,6)]dodecane, 4,12,12-trimethyl-9-methylene-, [1R-(1R*,4R*,6R*,10S*)]- \$\$\$ 5-Oxatricyclo(8-



Hit#:2 Entry:106693 Library:NIST14.lib

SI:87 Formula:C20H32 CAS:20016-73-3 MolWeight:272 RefIndex:0

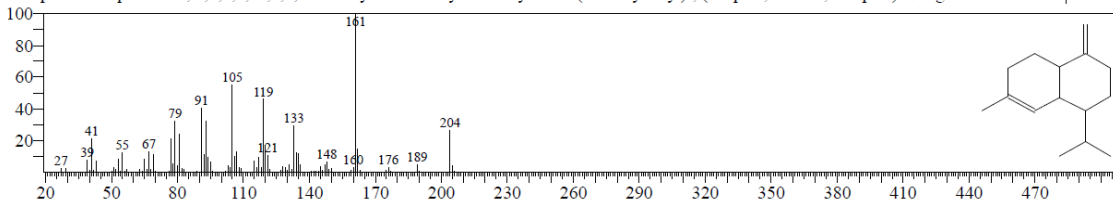
CompName:m-Camphorene \$\$\$ 5-(6-Methylhepta-1,5-dien-2-yl)-1-(4-methylpent-3-en-1-yl)cyclohex-1-ene \$\$\$ Cyclohexene, 5-(5-methyl-1-methylene-4-hex-



Hit#:4 Entry:19193 Library:NIST14s.lib

SI:78 Formula:C15H24 CAS:39029-41-9 MolWeight:204 RefIndex:1435

CompName:Naphthalene, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro-7-methyl-4-methylene-1-(1-methylethyl)-, (1.alpha.,4a.beta.,8a.alpha.)- \$\$\$ gamma-Cadinene\$\$\$ 1-Is-



Hit#:1 Entry:62482 Library:NIST14.lib

SI:88 Formula:C₁₅H₂₄O CAS:19888-34-7 MolWeight:220 RetIndex:1592

CompName:(1R,3E,7E,11R)-1,5,5,8-Tetramethyl-12-oxabicyclo[9.1.0]dodeca-3,7-diene, 1,5,5,8-tetramethyl-, (1E

