Revista Multidisciplinar do Nordeste Mineiro, v.12, 2024
ISSN 2178-6925

ESTUDO *IN SILICO* DA MODULAÇÃO MOLECULAR DOS GALATOS DE EPIGALOCATEQUINA, EPICATEQUINA DO CHÁ VERDE (*Camellia sinensis*) E SUA RELAÇÃO COM ALVOS MOLECULARES NA DOENÇA DO ALZHEIMER

IN SILICO STUDY OF THE MOLECULAR MODULATION OF EPIGALLOCATECHIN GALLATES, GREEN TEA EPICATECHIN (*Camellia sinensis*) AND ITS RELATIONSHIP WITH MOLECULAR TARGETS IN ALZHEIMER'S DISEASE

Isadora Paz Lima
Graduanda Bacharelado em Farmácia do Centro Universitário Santo Agostinho de Teresina/PI, Brasil
lsadorapaz.cc@gmail.com

Aurélio Hamurabe de Carvalho Becker
Graduando Bacharelado em Farmácia do Centro Universitário Santo Agostinho de Teresina/PI, Brasil
aureliohamurabe23@gmail.com

Hérika Wergilla Araújo Lima
Graduanda Bacharelado em Farmácia do Centro Universitário Santo Agostinho de Teresina/PI, Brasil
araujoherika-009@hotmail.com

Joubert Aires de Sousa
Docente da Universidade Estadual do Piauí (Centro de Ciências da Saúde) e do Centro Universitário Santo Agostinho de Teresina/PI, Farmacêutico habilitado em Análises Clínicas pela UFPI, Mestre em Farmacologia (UFPI), Especialista em Farmacologia (UFLA-MG), Doutor em Biologia Molecular e Celular na área Farmacológica e Toxicológica (ULBRA-RS), Brasil
airesjoubert@yahoo.com.br

Resumo

A Doença do Alzheimer (DA) é uma enfermidade responsável por afetar milhões de pessoas globalmente caracterizada pelo acúmulo de placas protéicas Beta-Amilóide e TAU no cérebro, neste contexto, recentes estudos têm abordado compostos presentes no chá verde (*Camellia sinensis),* como o Galato de Epicatequina (EGC) e Galato de Epigalocatequina (EGCG), por seu potencial terapêutico na prevenção da DA e outros distúrbios neurodegenerativos, embora sua eficácia terapêutica dependa da travessia na barreira hematoencefálica (*BBB*) no cérebro. Portanto, o objetivo do estudo propôs, por meio de ferramentas *in silico*, a modificação molecular dos Galatos de Epicatequina e Epigalocatequina aumentando a permeabilidade desses compostos preservando a afinidade com alvos relacionados ao Alzheimer. Foram realizadas um total de 221 análogos, entretanto, obedecendo aos critérios de inclusão determinados, foram utilizadas apenas 6 moléculas

as quais apresentaram relevante afinidade com os alvos de interesse, assim como, com alvos para além da DA como os alvos PGD, TERT e BCL2, segundo a plataforma SwissTarget Prediction. Através da plataforma PreADMET, foi possível observar a capacidade em atravessar a *BBB* e absorção intestinal (*HIA*) moderadas e, alta ligação às proteínas plasmáticas. Além disso, os compostos não demonstraram potencial mutagênico no Teste de Ames, boas margens de segurança quanto à DL_{50}, hepatotoxicidade e neurotoxicidade pelo ProTox III. Entre os análogos produzidos e analisados, EGC.S1, EGC.S2 e EGCG.S1 se destacaram como os mais promissores, apresentando os maiores valores de permeabilidade e absorção, bem como uma afinidade superior a 60% com os alvos BACE1 e MAPT relacionados à prevenção da Doença de Alzheimer. Os demais compostos apresentaram lipossolubilidade, permeabilidade e absorção moderadas, com afinidade por todos os alvos moleculares propostos, além de serem não mutagênicos e não carcinogênicos em camundongos, embora mostrassem potenciais riscos cardíacos, o que requer mais testes para um desenvolvimento mais objetivo e eficaz.

Palavras-chave: Análise *in silico*; *Camellia sinensis*; Catequinas; Doença do Alzheimer.

Abstract

Alzheimer's Disease (AD) is a disease responsible for affecting millions of people globally characterized by the accumulation of Beta-Amyloid and TAU protein plaques in the brain, in this context, recent studies have addressed compounds present in green tea (Camellia sinensis), such as Epicatechin Gallate (EGC) and Epigallocatechin Gallate (EGCG), for their therapeutic potential in the prevention of AD and other neurodegenerative disorders, although its therapeutic efficacy depends on crossing the blood-brain barrier (BBB) in the brain. Therefore, the objective of the study proposed, through in silico tools, the molecular modification of Epicatechin and Epigallocatechin Galates by increasing the permeability of these compounds while preserving the affinity with Alzheimer's-related targets. A total of 221 analogues were performed, however, according to the determined inclusion criteria, only 6 molecules were used, which showed relevant affinity with the targets of interest, as well as with targets beyond DA such as PGD, TERT and BCL2 targets, according to the SwissTarget Prediction platform. Through the PreADMET platform, it was possible to observe the ability to cross the BBB and intestinal absorption (HIA) moderately and high plasma protein binding. In addition, the compounds did not demonstrate mutagenic potential in the Ames test, good safety margins regarding LD50, hepatotoxicity and neurotoxicity by ProTox III. Among the analogues produced and analyzed, EGC. S1, EGC. S2 and EGCG. S1 stood out as the most promising, presenting the highest permeability and absorption values, as well as an affinity of more than 60% with the BACE1 and MAPT targets related to the prevention of Alzheimer's Disease. The other compounds showed moderate lipid solubility, permeability and absorption, with affinity for all the proposed molecular targets, in addition to being non-mutagenic and non-carcinogenic in mice, although they showed potential cardiac risks, which requires further tests for a more objective and

effective development.

Keywords: In silico analysis; *Camellia sinensis*; Catechins; Alzheimer's disease.

1. Introdução

As plantas são uma fonte rica de substâncias químicas com qualidades diversas a serem exploradas, influenciado por práticas antigas difundida ao longe de gerações, perdendo apenas para água, os chás (ou infusões) é a bebida mais consumida no mundo frequentemente utilizadas como tratamento complementar (ERHARDT, 2023). Vale ressaltar que apesar de popularmente serem chamadas de chá, apenas as infusões da planta *Camellia sinensis* é o verdadeiro chá (chá branco, chá verde, chá preto e chá de oolong), enquanto nas demais plantas são infusões e, atualmente o chá verde, infusão das folhas da *C. sinensis*, é considerado um alimento funcional, sendo benéfico para a saúde devido aos seus compostos bioativos (SILVA, 2016).

Através da utilização de ferramentas computacionais, como a modelagem e dinâmica molecular embasada em princípios da química e da biologia, é possível prever como determinadas substâncias interagem com alvos moleculares específicos envolvidos na patogênese de doenças, então, na busca persistente por novas soluções para compreender e intervir em processos biológicos complexos como o Alzheimer, a pesquisa científica tem se voltado para as ferramentas *in silico* como uma abordagem que poupa tempo e recursos (TAVARES et al., 2020).

Estudos recentes têm relatado compostos presentes no chá verde, como o Galato de Epicatequina (EGC) e Galato de Epigalocatequina (EGCG), que dispõem de propriedades potencialmente terapêuticas na prevenção do Alzheimer e outros distúrbios neurodegenerativos, no entanto, a eficácia desses compostos se limita a sua aptidão para atravessar a barreira hematoencefálica (BHE), membrana que regula o transporte de substâncias entre o sangue e o sistema nervoso central (SNC) (GOMES, 2021; SILVA, 2022).

A Doença do Alzheimer é uma enfermidade, responsável por afetar milhões de pessoas em todo o mundo, de neurodegeneração progressiva, e incurável, patologicamente caracterizada pelo acúmulo de placas da proteína Beta-Amilóide e emaranhados de proteína TAU no cérebro, resultando na perda gradual da

memória e capacidade em cumprir tarefas simples (NEUMANN, 2010). Nesse contexto, o estudo em questão se propõe, por meio da modificação da estrutura química dos Galatos de Epicatequina e Epigalocatequina presentes na Camellia sinensis, aumentar a permeabilidade desses compostos e manter-se em afinidade com alvos relacionados à Doença do Alzheimer (DA).

2. Metodologia

A primeira etapa do estudo consistiu em buscar na literatura a estrutura dos compostos EGC e EGCG PubChem, presentes na *Camellia sinensis* bem como quais os tipos de modificações mais adequadas para o objetivo do trabalho. Realizou-se o desenho, a modificação molecular, a otimização em 2D e a exportação em 3D das estruturas químicas através do software ChemSketch. Então, importou-se essas moléculas nas plataformas online, utilizando como critério de exclusão as estruturas químicas que apresentassem menos que 35% de ligação com os alvos de interesse do estudo, valores de BBB inferiores que os do protótipo e, fossem maior do que a capacidade suportada pelos servidores de pesquisa, impossibilitando o fornecimento dos resultados.

Com o SwissTarget Prediction (http://www.swisstargetprediction.ch/) realizou-se a predição dos alvos moleculares em que cada estrutura possui afinidade e probabilidade em estabelecer uma ligação. Em plataformas como o SwissADME (http://www.swissadme.ch/) e o PreADMET (https://preadmet.webservice.bmdrc.org/) obtiveram-se os dados físico-químicos, como LogP e Peso Molecular, dados farmacocinéticos, como a absorção intestinal e metabolização por citocromos e, o PreADMET juntamente à plataforma ProTox-III (https://tox.charite.de/protox3/index.php?site=home) adquiriu-se os dados toxicológicos, como o teste de ames, a carcinogenicidade e DL_{50}.

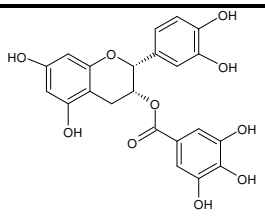
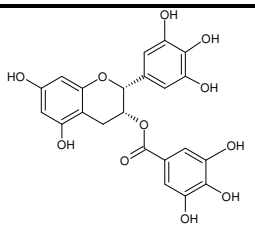
3. Resultados e Discussão

A *Camellia sinensis*, conhecida como o verdadeiro chá, é uma espécie botânica reconhecida por diversos compostos bioativos como os polifenóis, catequinas, flavonoides e cafeína proporcionando características medicinais ao chá (HAJIAGHAALIPOUR et al., 2013).

As diferentes apresentações da *Camellia sinensis*, Chá Branco, Verde, Preto e Oolong, variam significativamente em relação a cor, sabor, aroma e composição química. Estudos como o de Ferreira e Baiense (2021) demonstraram que, dentre os quatro tipos, o chá verde contém a maior quantidade de flavonóides, sendo as catequinas representando entre 80 a 90% do total desses flavonoides, destacando o Galato de Epigalocatequina (EGCG) como o componente bioativo mais abundante e significativo, em 48-55% seguido de outras catequinas, em especial a Galato de Epicatequina (EGC) com 9-12%.

Nesse sentido, os compostos EGC e EGCG da *C.sinensis* foram escolhidos como protótipo, demonstrados na **Figura 1**, para um planejamento racional de novas moléculas ativas.

Figura 1. Estrutura dos Protótipos: Galato de Epicatequina e Epigalocatequina

Galato de Epicatequina	Galato de Epigalocatequina
	

Fonte: Autores, 2024.

Tal planejamento com produtos de plantas medicinais têm como método mais utilizado, a introdução de grupos que conferem ao composto em análise uma característica mais hidrofílica ou hidrofóbica, mais ou menos seletiva, ou lipossolúvel ou grupos doadores e aceptores de elétrons, tornando-o mais ou menos bioativo (FILHO; YUNES, 1998; TEIXEIRA; MILAGRE, 2020).

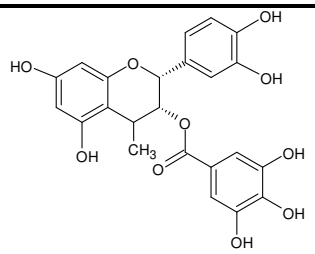
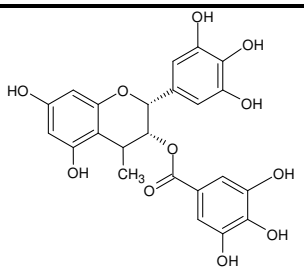
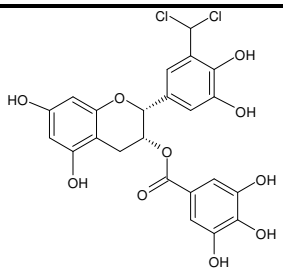
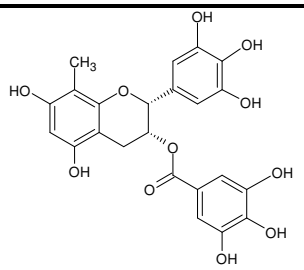
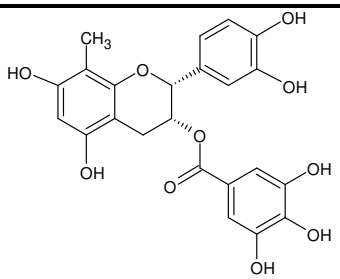
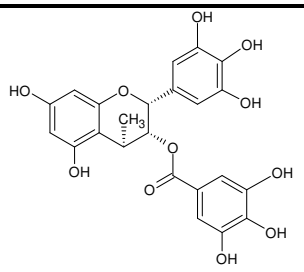
Uma das modificações estruturais adotadas foi a adição de halogênios e metil em posições contrárias ao grupo farmacofórico pois, de acordo com Rocha e colaboradores (2015), novas áreas de absorção podem ser formadas a depender da posição em que se adiciona um halogênio. Nesse mesmo seguimento, adicionou-se metil às estruturas devido a capacidade desse grupo em gerar um ambiente hidrofóbico (PIOLI, 2018).

Foram analisados, no total, 221 designs de análogos a partir dos protótipos, sendo que o critério de inclusão para as moléculas serem selecionadas foi a

capacidade de cada análogo se ligar aos alvos de interesse em uma probabilidade de no mínimo 35%.

Portanto, apenas 6 moléculas, sendo destas 3 de cada protótipo, obedeceram ao critério estabelecido. A estrutura de todas as moléculas pode ser observada na **Figura 2**, e identificar visualmente os radicais adicionados às substâncias confeccionadas. Cada análogo foi nomeado pelo prefixo da sigla do composto protótipo somado ao sufixo “Sx”, onde “x” indica a numeração do análogo, por exemplo o EGC.S1 – análogo a partir do Galato de Epicatequina.

Figura 2. Estrutura química dos derivados da modificação molecular da Galato de Epicatequina e da Epigalocatequina.

EGC.S1	**EGCG.S1**
	
EGC.S2	**EGCG.S2**
	
EGC.S3	**EGCG.S3**
	

Fonte: Autores, 2024.

Conforme apresentado na **Tabela 1**, os valores de LogP ou coeficiente de partição é um dos descritores físico-químicos mais significativos, pois, fármacos

com boa permeabilidade celular apresentam valores moderados de LogP, onde quanto maior os valores de LogP mais lipofílico é o composto analisado (SOLIMAN et al., 2021). Esse e demais parâmetros físico-químicos foi categorizado pelas diretrizes estabelecidas por Lipinski, Regra dos Cinco (ou '*Rule of Five'* – RO5), que avalia as características físico-químicas de um composto químico e determina se o mesmo é favorável ou não para a administração por via oral (LIPINSKI et al., 2012).

Tabela 1. Dados Físico-Químicos dos compostos secundários da *Camellia sinensis* e seus derivados analisados de acordo com a RO5 de Lipinski, segundo o SwissADME.

MÉTODO	LogP	Peso Molecular (g/mol)	Aceptores de H	Doadores de H
MOLÉCULAS				
EGC	**1.36**	**442.37**	**10**	**7**
EGCG	**1.00**	**458.37**	**11**	**8**
EGC.S1	**1.71**	**456.40**	**10**	**7**
EGC.S2	**2.41**	**525.29**	**10**	**7**
EGC.S3	**1.90**	**456.40**	**10**	**7**
EGCG.S1	**1.37**	**472.40**	**11**	**8**
EGCG.S2	**1.52**	**472.40**	**11**	**8**
EGCG.S3	**1.45**	**472.40**	**11**	**8**

Legenda: [LogP]: Coeficiente de Partição; [Peso Molecular]: Peso da molécula em gramas por mol; [Aceptores de H]: Receptores de Hidrogênio; [Doadores de H]: Doadores de Hidrogênio. Fonte: Autores, 2024.

Desta forma, de acordo com a RO5, as moléculas promissoras a fármacos devem constar um LogP de 0,4 a 5.6, bem como, peso molecular de 180 a no máximo 500 Daltons (correspondente a 500 g/mol) e, por fim, no máximo 10 aceptores e 5 doadores de Hidrogênio (SANTOS; GONSALVES; ARAÚJO, 2018). De acordo com todo o exposto, de um modo geral os análogos tido como promissores, em relação aos protótipos, são os análogos EGC.S1, EGC.S3 com os valores de LogP, Peso Molecular e Aceptores de H adequados, enquanto que tanto o protótipo EGCG quanto os seus análogos ultrapassam os valores da RO5 para a quantidade de aceptores e doadores de H, apesar de apresentarem dados favoráveis de lipofilicidade com o LogP e Peso Molecular.

Dentre os parâmetros farmacocinéticos expressados **Tabela 2**, de acordo com Miranda et al. (2021) os estudos padronizam os valores ideais de travessia

pela barreira hematoencefálica (BHE, ou em inglês BBB – *Blood Brain Barrier*) em: >2,0 atravessa livremente, entre 0,1 e 2,0 atravessa moderadamente e <0,1 atravessa pouco ou não atravessa. A passagem por essa barreira demonstra a interação da mesma com substâncias de desenvolvimento estratégico com foco na entrega de medicamentos ao cérebro (BURGESS; HYNYNEN, 2013).

Tabela 2. Dados Farmacocinéticos e Físico-Químicos dos compostos secundários da *Camellia sinensis* e seus derivados, segundo o PreADMET.

MÉTODO	BBB	Caco-2 (nm/sec)	HIA	PPB	PGP
MOLÉCULAS					
EGC	0.1411	13.212	40.581	100	SIM
EGCG	0.0875	12.042	20.712	100	SIM
EGC.S1	0.1762	12.678	43.327	100	SIM
EGC.S2	0.2950	20.530	68.138	100	SIM
EGC.S3	0.1945	13.627	43.357	100	SIM
EGCG.S1	0.1040	11.762	22.692	100	SIM
EGCG.S2	0,1135	12.153	22.716	100	SIM
EGCG.S3	0.1040	11.762	22.692	100	SIM

Legenda: BBB (Blood Brain Barrier): Barreira Hematoencefálica; Caco2: Células Epiteliais/barreira cutânea; HIA: Absorção Intestinal; PPB (Plasma Protein Binding): Ligação às proteínas plasmáticas; PGP: Glicoproteína P. Fonte: Autores, 2024.

Com o decorrer dos anos as células Caco-2 têm sido empregadas nos experimentos com o objetivo de auxiliar na identificação de substâncias que demonstrem potencial terapêutico frente às análises de absorção e permeabilidade (MOTTA; CORREA; CEZÁRIO, 2023). A classificação de permeabilidade segundo o Caco-2 corresponde a baixa quando <4 nm/sec, média com valores entre 4 e 70 nm/sec e, alta quando apresentar-se >70 nm/sec (MOCHIUTTI et al., 2019).

A predição de Absorção Intestinal Humana (*HIA – 'Human Intestinal Absorption'*) demonstra, em porcentagem, a absorção e biodisponibilidade dos compostos após administração oral e, classifica-se em baixo quando em 0 a 20%, moderado de 20 a 70% e alto quando apresentar-se >70% (ILIEV et al., 2023).

Além da absorção e metabolismo, a eficiência terapêutica de uma droga apoia-se, também, em sua afinidade de ligação com as proteínas plasmáticas (ou em inglês '*Plasma Protein Binding*' – PPB), classificada em elevadas quando se apresentarem acima de 75%, representando menos droga livre (SINGH et al., 2021). A Glicoproteína P (PGP) expressa-se como um mecanismo de defesa em

diversos tecidos, entretanto, atualmente a sua sobrexpressão está relacionada a uma falência terapêutica com o efluxo das substâncias administradas após absorção e favorecendo a queda da biodisponibilidade dos compostos medicamentosos (SANTOS, 2017).

Com exceção do protótipo EGCG que, de acordo com a classificação, não demonstra passagem favorável pela barreira hematoencefálica, todas as estruturas analisadas demonstraram travessia moderada pela BBB, bem como, moderada permeabilidade pelas células Caco-2 e absorção intestinal (HIA), além de terem alta afinidade com as proteínas plasmáticas e de inibirem a glicoproteína P. Nesse sentido, as moléculas que melhor alcançaram o padrão esperado foram os análogos EGC.S1, EGC.S2, EGC.S3 e EGCG.S2.

A inibição do citocromo P450 afeta a segurança do uso de substâncias, em decorrência das concentrações plasmáticas do fármaco deixando-a em grande quantidade aumentando ou prolongando os efeitos, tornando-a mais tóxica ou reduzindo a sua ação, conforme exposto pela **Tabela 3.**, sobretudo tratando-se de pró-fármacos, sendo eles, compostos inativos que, quando ativados pelo citocromo, passam a exercer seus efeitos terapêuticos (SOUSA; COSTA JÚNIOR; SILVA, 2021).

Tabela 3. Registro da análise do metabolismo das moléculas dos compostos secundários da *Camellia sinensis* e de seus derivados por isotipos de citocromos, e do potencial de inibição do metabolismo via citocromo, segundo o PreADMET.

MÉTODO	CYP3A4 metabolização	CYP3A4 inibição	CYP2C19 inibição	CYP2C9 inibição	CYP2D6 metabolização	CYP2D6 inibição
MOLÉCULAS						
EGC	*	+	+	+	-	-
EGCG	*	+	+	+	-	-
EGC.S1	*	+	+	+	-	-
EGC.S2	*	+	+	+	-	-
EGC.S3	*	+	+	+	-	-
EGCG.S1	*	+	+	+	-	-
EGCG.S2	*	+	+	+	-	-
EGCG.S3	*	+	+	+	-	-

Legenda: [*]: Fraco; [**]: Moderado; [***]: Forte; [+] Inibidor/Metabolizado; [-] Não Inibidor/Não Metabolizado. Fonte: Autores, 2024.

As enzimas CYP são responsáveis por metabolizar grande parte dos medicamentos comercializados, sendo as isoformas 3A4, 2C9, 2C19 e 2D6 as

responsáveis por 95% das oxidações de substâncias (CARRERA-PACHECO et al., 2024). A inibição das isoenzimas desse sistema consta em um dos principais fatores para a ocorrência de interações medicamentosas ou efeitos adversos devido à baixa purificação e acúmulo de fármacos ou metabólitos no organismo (RODRIGUES; COSTA, 2021).

Nesse sentido, todos os compostos apresentaram a mesma atividade em não inibir e metabolizar o CYP2D6, entretanto, inibem os CYPs 3A4, 2C9 e 2C19 metabolizam fracamente o CYP3A4. Resultando, assim, na necessidade de novos estudos nesse setor devido às altas chances de interações com as substâncias.

Por ser responsável por codificar a subunidade alfa do canal de potássio no miócito cardíaco, a avaliação de inibição do gene hERG, disposta na **Tabela 4**, é capaz de prever os potenciais efeitos colaterais dos compostos no coração, então quando uma substância o inibe resulta em um bloqueio desse canal permitindo que o potencial de ação da repolarização fique mais lenta, aumentando o risco de arritmias (SILVA et al., 2022).

Tabela 4. Dados Toxicológicos dos compostos secundários da *Camellia sinensis* e de seus derivados, de acordo com o PreADMET.

MÉTODO	Carcino Mouse	Carcino Rat	hERG Inhibition
MOLÉCULAS			
EGC	-	+	***
EGCG	-	+	***
EGC.S1	-	+	***
EGC.S2	-	-	***
EGC.S3	-	+	***
EGCG.S1	-	-	***
EGCG.S2	-	+	***
EGCG.S3	-	-	***

Legenda: [-] Negativo; [+] Positivo; [*] Risco Baixo; [**] Risco Médio; [***] Risco Alto. Fonte: Autores, 2024.

Nenhum dos compostos analisados demonstraram atividade de carcinogenicidade em camundongos, enquanto que todos demonstraram alto risco de causar arritmias, uma vez que podem inibir o hERG, e apenas os análogos EGC.S2, EGCG.S1 e EGCG.S3 não demonstraram carcinogenicidade em ratos quando comparados aos protótipos EGC e EGCG.

O teste de Ames é essencial para detectar mutações no material genético, indicado por cepas de *Salmonella typhimurium* (TA100 e TA1535), onde é

necessária que uma mutação reversa aconteça, favorecendo o crescimento das colônias bacterianas, para que as substâncias analisadas sejam consideradas mutagênicas, sendo que estas cepas podem se apresentar com ou sem a fração S9 (+S9, -S9), indicando o potencial mutagênico dos compostos secundários ou de seus metabólitos respectivamente, como apresentado na **Tabela 5**, pois a fração S9 simula o metabolismo hepático que ocorreria no corpo humano após a metabolização da substância (ISIKA et al., 2022).

Tabela 5. Resultados do Teste de AMES *in silico* dos compostos secundários da *Camellia sinensis* e de seus derivados, segundo o PreADMET.

MÉTODO	TA100 (-S9)	TA1535 (-S9)	TA100 (+S9)	TA1535 (+S9)
MOLÉCULAS				
EGC	-	-	-	-
EGCG	-	-	-	-
EGC.S1	-	-	-	-
EGC.S2	-	-	-	-
EGC.S3	-	-	-	-
EGCG.S1	-	-	-	-
EGCG.S2	-	-	-	-
EGCG.S3	-	-	-	-

Legenda: [-] Negativo; [+] Positivo. Fonte: Autores, 2024.

Na presente análise, verificou-se a mutagenicidade das substâncias sob a perspectiva das cepas TA100 e TA1535, uma vez que, ambas são sensíveis a substituição por pares de bases, sendo a cepa TA100 mais sensível aos mutagênicos por possuir a adição de um plasmídio pKM101 que aumenta as mutações através do reparo de DNA, tanto induzido quanto espontâneo, propenso a erros e, estando esse mesmo plasmídio ausente na cepa TA1535 proporcionando, assim, o estudo de ambas as cepas essencial para permitir a visualização do comparativo de diferentes mutações em modelos e cenários variáveis (SANTOS et al., 2024).

Diante do exposto, nenhum dos compostos analisados e metabólitos destes, demonstraram atividade mutagênica através de substituição por pares de base nas frações analisadas para o teste de Ames, sugerindo uma margem de segurança quanto à não mutagenicidade de ambos os protótipos e seus análogos.

A Dose Letal média (DL_{50}) em mg/Kg, evidenciada pela **Tabela 6**, é um parâmetro que analisa o quanto de uma substância administrada em uma única

dose é capaz de provocar a morte de 50% da população testada (LEMOS et al., 2024)

Tabela 6. Dados Toxicológicos gerais dos metabólitos secundários da *Camellia sinensis* e de seus derivados, de acordo com a plataforma Protox III.

MÉTODO	DL_{50} (mg/Kg)	Carcinogenicidade (%)	Imunotoxicidade (%)	Mutagenicidade (%)	Citotoxicidade (%)
MOLÉCULAS					
EGC	**1.000**	**54**	**87**	**70**	**82**
EGCG	**1.000**	**54**	**89**	**70**	**82**
EGC.S1	**1.000**	**53***	**82***	**64**	**96**
EGC.S2	**1.000**	**53**	**56**	**63**	**67**
EGC.S3	**1.000**	**59**	**50**	**64**	**81**
EGCG.S1	**1.000**	**53***	**79***	**64**	**96**
EGCG.S2	**1.000**	**59**	**53**	**64**	**81**
EGCG.S3	**1.000**	**53***	**79***	**64**	**96**

Legenda: [*]: Ativo; DL_{50}: Dose Letal para 50% de uma população teste em mg/Kg. Fonte: Autores, 2024.

A predição de toxicidade geral evidenciou resultados positivos em termos de margem de segurança quanto à dosagem letal média, uma vez que todas as substâncias demonstraram um valor elevado de DL_{50} (1.000 mg/Kg). Já com relação aos potenciais de carcinotoxicidade e imunotoxicidade apenas os análogos EGC.S1, EGCG.S1 e EGCG.S3 apresentaram probabilidade ativa em provocar essas toxicidades, contudo, nenhuma das moléculas apresentaram tal potencial para mutagenicidade e citotoxicidade.

A toxicidade induzida por drogas pode provocar efeitos ou lesões em diversas áreas do organismo, como evidenciado na **Tabela 7**, como a hepatotoxicidade é uma causa proeminente de insuficiência hepática aguda, neurotoxicidade pode levar a vários sintomas ou distúrbios neurológicos, bem como, a nefrotoxicidade pode desestabilizar a homeostase do corpo em função do desequilíbrio renal e a toxicidade respiratória que pode variar em sintomas como um desconforto leve a uma dificuldade respiratória grave e, todos os fatores mencionados podem ser causas para o não lançamento ou retirada de medicações do mercado (BANERJEE et al., 2024).

Tabela 7. Dados Toxicológicos em órgãos e sistemas dos metabólitos secundários da *Camellia sinensis* e de seus derivados, de acordo com a plataforma Protox III.

MÉTODO	Hepato toxicidade (%)	Neuro toxicidade (%)	Nefro toxicidade (%)	Toxicidade Respiratória (%)	Cardio toxicidade (%)
MOLÉCULAS					
EGC	**70**	**88**	**73***	**79***	**89**
EGCG	**70**	**88**	**73***	**79***	**89**
EGC.S1	**70**	**89**	**71***	**83***	**57***
EGC.S2	**61**	**86**	**81***	**79***	**86**
EGC.S3	**71**	**88**	**72***	**77***	**59**
EGCG.S1	**70**	**89**	**71***	**83***	**57***
EGCG.S2	**71**	**88**	**72***	**77***	**59**
EGCG.S3	**70**	**89**	**71***	**83***	**57***

Legenda: [*] Ativo. Fonte: Autores, 2024.

Seguindo o mesmo cenário dos protótipos, todos os análogos apresentaram probabilidade ativa em desenvolver toxicidade respiratória e nefrotoxicidade, com exceção dos análogos EGC.S1, EGCG.S1 e EGCG.S3 que foram os únicos a demonstrarem, também, cardiotoxicidade. Em contrapartida, nenhuma das moléculas apresentaram probabilidade ativa nas propriedades hepatotóxicas e neurotóxicas analisadas, conferindo maior segurança não só em relação aos demais parâmetros, mas também no local de ação proposto pelo objetivo terapêutico.

Como disposto na **Tabela 8**, foram encontrados e selecionados 7 alvos de importância clínica, sendo quatro deles (APP, MAPT, BACE1 e MAPK14) diretamente correlacionados à Doença de Alzheimer (DA). Do ponto de vista neuropatológico, de um modo geral a doença se inicia na progressão da degeneração de neurônios da área entorrinal, porta de entrada das vias que se dirigem do neocórtex ao hipocampo resultando na atrofia do hipocampo com o acúmulo excessivo de duas proteínas: TAU e Beta-Amilóide (APP), a beta-amilóide usualmente presente em quantidades controladas, se acumula em forma de placas amilóides no parênquima e nas paredes arteriolares, levando à angiopatia e, além disso, ocorre uma reação inflamatória entre as placas proteicas, mediada por células gliais, já a proteína tau forma emaranhados neurofibrilares, ocasionando a morte neuronal, perda de sinapses e neurônios, e atrofia cerebral (MACHADO; HAERTEL, 2022, p. 262).

Tabela 8. Afinidade de ligação dos compostos secundários da *Camellia sinensis* ou de seus derivados com os Alvos Moleculares do Organismo Humano, segundo a paltaforma Swiss Target Prediction.

ALVOS	APP	MAPT	BACE1	MAPK14	PGD	TERT	BCL2
MOLÉCULAS							
EGC	93,68%	93,68%	93,68%	100%	100%	93,68%	100%
EGCG	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
EGC.S1	67,04%	67,04%	86,97%	81,26%	81,26%	57,56%	81,26%
EGC.S2	37,25%	37,25%	39,87%	44,23%	44,23%	37,25%	44,23%
EGC.S3	60,34%	60,34%	74,59%	76,26%	76,26%	62,85%	76,26%
EGCG.S1	63,55%	63,55%	81,01%	69,37%	81,01%	63,55%	77,68%
EGCG.S2	61,06%	61,06%	67,71%	70,19%	70,19%	61,06%	70,19%
EGCG.S3	59,40%	59,40%	79,35%	62,72%	79,35%	64,39%	79,35%

Legenda: APP: Proteína Beta Amilóide A4; MAPT: Microtúbulo associado à proteína TAU; BACE1: Beta-secretase 1; MAPK14: Proteína Quinase 14 ativada por Mitógeno; PGD: 6-Fosfogluconato desidrogenase; TERT: Telomerase Transcriptase Reversa; BCL2: Regulador de Apoptose BCL2; [-] Não houve ligação. Fonte: Autores, 2024.

As placas são constituídas de peptídeos beta-amilóides derivados do processamento da APP pela enzima de clivagem Beta-secretase 1 (BACE1), além dos emaranhados neurofibrilares serem compostos por filamentos que compreendem formas hiperfosforiladas do Microtúbulo associado à proteína TAU (MAPT) (DELAY; MANDEMAKERS; HÉBERT, 2012). Nesse sentido, espera-se que substâncias que ajam na BACE1 estimulem uma interferência na cascata amilóide, impedindo sua excessiva clivagem da APP e, consequentemente, formação e agregação do peptídeo beta-amilóide (JOHN et al., 2011; DELANOGARE et al., 2019).

Wei e Delprato (2021) levantaram em seu trabalho a hipótese de que a importância de prevenir doenças cardiovasculares pode ser um meio para o tratamento da DA ao investigar a Proteína Quinase 14 ativada por Mitógeno (MAPK14) como um possível alvo terapêutico para o Alzheimer por, não apenas atenuar defeitos no sistema de autofagia-lisossomal, componente crítico da DA, como também a redução da toxicidade sináptica induzida por inflamações, auxiliando na limpeza de placas amilóides. Enquanto que, esse mesmo alvo, foi identificado como um importante biomarcador para Acidente Vascular Cerebral (AVC), fortalecendo a hipótese do uso da MAPK14 nos estudos para doenças cardiovasculares e DA (LI; WANG, 2020).

Para além da especificidade com a DA, foram encontrados alvos como PGD, TERT e BCL2. A enzima 6-Fosfogluconato Desidrogenase (PGD), além de ajudar a proteger os glóbulos vermelhos de danos e destruição prematura, faz parte de uma das enzimas-chave para a via da Pentose Fosfato (PPP) associados ao desenvolvimento e quimiorresistência no câncer (MA; CHENG, 2018). Estudos realizados por GUO et al. (2019), utilizando diferentes abordagens e modelos pré-clínicos, demonstraram que a inibição desta enzima diminui a atividade de crescimento e migração em células de câncer cervical.

As proteínas da família BCL2 possui efeitos inibitórios e estimuladores, sendo a BCL2 (Reguladora de Apoptose) sob superexpressão protetora das células de apoptose (MÓL; PASSADOR-SANTOS, 2024). A terapia direcionada ao câncer busca barrar a ação de proteínas que desempenham algum tipo de progressão cancerígena e, devido a BCL2 ser regulada positivamente em diversos tipos de cânceres, têm-se tornado alvo importante para a busca terapêutica dessas patologias (RADHA; RAGHAVAN, 2017).

A enzima Telomerase Transcriptase Reversa (TERT) promove o contínuo comprimento dos telômeros ao sintetizar sequências repetitivas do DNA telomérico, entretanto, aproximadamente 90% das células cancerígenas que apresentam alta expressividade dessa enzima alcançam imortalidade celular (SILVA et al., 2019). Então, com o fim de induzir seletivamente a apoptose dessas células, a enzima TERT têm se tornado outro alvo importante para novos regimes de tratamento de câncer, como por exemplo diversas estratégias de vacinas, apontadas por Buseman e colaboradres (2012), que foram desenvolvidas, testadas e produziram resposta imune específicas contra células tumorais positivas para TERT, demonstrando-se uma linha de pesquisa em potencial.

Então, correlacionando com os alvos almejados, com exceção do análogo EGC.S2, todas as moléculas modificadas mantiveram mais de 50% de probabilidade de ligação com os alvos de interesse com a DA, em especial os análogos EGC.S1 e EGCG.S1 apresentando mais de 80% de afinidade com o alvo BACE1, precursor dos peptídeos beta-amilóides. Dessa forma, sugerindo importância clínica de pesquisa para essas estruturas confeccionadas a partir dos compostos presentes na C. sinensis.

4. Conclusão

Os compostos analisados, de um modo geral, apresentaram lipossolubilidade, permeabilidade e absorção moderadas, mantiveram afinidade com todos os alvos moleculares propostos, além de não mutagênicos, com base no teste de Ames, e não carcinogênico em camundongos. Embora seguros quanto à neurotoxicidade, local de ação proposto, evidenciou também potenciais riscos cardíacos, inclusive risco aumentado de causarem arritmias, sendo assim, são necessários ainda a realização de mais testes, inclusive *in vitro* e *in vivo*, que permitam informações complementares demonstrando a segurança para uso destas substâncias.

Também, verificou-se que os análogos EGC.S1, EGC.S2 e EGCG.S1 demonstraram-se os mais promissores dentre os demais análogos e os protótipos, presentes na *Camellia sinensis*, com os maiores valores de permeabilidade entre as membranas e absorção encontradas, bem como, a afinidade em mais de 60% com os alvos BACE1 e MAPT associados à Doença do Alzheimer.

Referências

BANERJEE, Priyanka et al. ProTox 3.0: a webserver for the prediction of toxicity of chemicals. **Nucleic Acids Research**, p. gkae303, 2024. Disponível em:<https://doi.org/10.1093/nar/gkae303>. Acesso em: 27 de setembro de 2024.

BURGESS, Alison; HYNYNEN, Kullervo. Noninvasive and targeted drug delivery to the brain using focused ultrasound. **ACS chemical neuroscience**, v. 4, n. 4, p. 519-526, 2013. Disponível em:<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/cn300191b>. Acesso em: 21 de setembro de 2024.

BUSEMAN, C. M.; WRIGHT, W. E.; SHAY, J. W. Is telomerase a viable target in cancer?. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 730, n. 1-2, p. 90-97, 2012. Disponível em:<https://doi.org/10.1016%2Fj.mrfmmm.2011.07.006>. Acesso em: 22 de setembro de 2024.

CARRERA-PACHECO, Saskya E. et al. (2024) Designing cytochrome P450 enzymes for use in cancer gene therapy. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 12, p. 1405466, 2024. Disponível em:<https://doi.org/10.3389/fbioe.2024.1405466>. Acesso em: 27 de setembro de 2024.

DELANOGARE, Eslen et al. Hipótese amiloide e o tratamento da doença de Alzheimer: revisão dos estudos clínicos realizados. **VITTALLE-Revista de**

Ciências da Saúde, v. 31, n. 1, p. 84-106, 2019. Disponível em:<https://doi.org/10.14295/vittalle.v31i1.8395>. Acesso em: 22 de setembro de 2024.

DELAY, Charlotte; MANDEMAKERS, Wim; HÉBERT, Sébastien S. MicroRNAs in Alzheimer's disease. **Neurobiology of disease**, v. 46, n. 2, p. 285-290, 2012. Disponível em:<https://doi.org/10.1016/j.nbd.2012.01.003>. Acesso em: 22 de setembro de 2024.

ERHARDT, Manuela Carine Cavalcante. **Ciclo da assistência farmacêutica na Farmácia Viva do município de Afogados da Ingazeira.** 2023. Trabalho de Conclusão de Curso (Farmácia) - Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife - PE, 2023. Disponível em:<https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/55170>. Acesso em: 16 de março de 2024.

FERREIRA, Mariana dos Santos; BAIENSE, Alex Sandro Rodrigues. CONTROLE DE QUALIDADE NA MANIPULAÇÃO MAGISTRAL DA CAMELLIA SINENSIS (CHÁ VERDE). **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação**, v. 7, n. 10, p. 1720-1739, 2021. Disponível em:<https://doi.org/10.51891/rease.v7i10.2693>. Acesso em: 21 de setembro de 2024.

FILHO, Valdir Cechinel ; YUNES, Rosendo A. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais: conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. **Química nova**, v. 21, p. 99-105, 1998. Disponível em:<https://doi.org/10.1590/S0100-40421998000100015>. Acesso em: 21 de setembro de 2024.

GOMES, Jessica Santos. **Desenvolvimento de método eletroanalítico por voltametria de pulso diferencial para determinação de Flavan-3-ol em fitoterápicos.** 2021. 112 f. Dissertação de Mestrado (Química) - Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Uberlândia - MG, 2021. Disponível em:<https://repositorio.ufu.br/handle/123456789/32918>. Acesso em 16 de março de 2024.

GUO, H. et al. Inhibiting 6-phosphogluconate dehydrogenase enhances chemotherapy efficacy in cervical cancer via AMPK-independent inhibition of RhoA and Rac1. **Clinical and Translational Oncology**, v. 21, p. 404-411, 2019. Disponível em:<https://doi.org/10.1007/s12094-018-1937-x>. Acesso em: 22 de setembro de 2024.

HAJIAGHAALIPOUR, Fatemeh et al. The effect of Camellia sinensis on wound healing potential in an animal model. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2013, 2013. Disponível em:<https://doi.org/10.1155/2013/386734>. Acesso em: 11 de março de 2024.

ILIEV, Ivelin et al. In silico study of the toxicity of hyperforin and its metabolites. **Pharmacia**, v. 70, p. 435-447, 2023. Disponível em:<https://doi.org/10.3897/pharmacia.70.e107041>. Acesso em: 27 de setembro de 2024.

ISIKA, DK. et al. Synthesis, biological and computational studies of flavonoid acetamide derivatives. **RSC Adv.**, v. 12, n. 16, p. 10037-10050, 2022. Disponível em:<https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2022/ra/d2ra01375d>. Acesso em: 09 de maio de 2024.

JOHN, Shalini et al. Potent BACE-1 inhibitor design using pharmacophore modeling, in silico screening and molecular docking studies. **BMC bioinformatics**, v. 12, p. 1-11, 2011. Disponível em:<https://doi.org/10.1186/1471-2105-12-S1-S28>. Acesso em: 22 de setembro de 2024.

LEMOS, Bruno et al. (2024) POTENCIAL ANTINEOPLÁSICO DE COMPOSTOS QUÍMICOS DA MANGABEIRA (HANCORNIA SPECIOSA GOMES): UMA ABORDAGEM IN SILICO COM FOCO NO TRATAMENTO DO CÂNCER DE MAMA. **Revista Interfaces: Saúde, Humanas e Tecnologia**, v. 12, n. 1, p. 3966-3974, 2024. Disponível em:<https://doi.org/10.16891/2317-434X.v12.e1.a2024.pp3966-3974>. Acesso em: 27 de setembro de 2024.

LI, Zhao; XU, Li; WANG, Qingxiu. Integrative analysis of MAPK14 as a potential biomarker for cardioembolic stroke. **BioMed Research International**, v. 2020, n. 1, p. 9502820, 2020. Disponível em:<https://doi.org/10.1155/2020/9502820>. Acesso em: 22 de setembro de 2024.

LIPINSKI, Christopher A. et al. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. **Advanced drug delivery reviews**, v. 64, p. 4-17, 2012. Disponível em:<https://doi.org/10.1016/j.addr.2012.09.019>. Acesso em: 27 de setembro de 2024.

MA, Ling; CHENG, Qiao. Inhibiting 6-phosphogluconate dehydrogenase reverses doxorubicin resistance in anaplastic thyroid cancer via inhibiting NADPH-dependent metabolic reprogramming. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 498, n. 4, p. 912-917, 2018. Disponível em:<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2018.03.079>. Acesso em: 22 de setembro de 2024.

MACHADO, Angelo; HAERTEL, Lúcia Machado. **Neuroanatomia funcional**. 4. ed. Rio de Janeiro: Atheneu Editora, 2022, p. 363. Disponível em:<https://edisciplinas.usp.br/mod/resource/view.php?id=4698515&forceview=1>. Acesso em: 22 de setembro de 2024.

MIRANDA, Camila Cristina da Silva; SALAZAR, Victor Alexandre Cardoso; DE BRITO, Maria dos Remédios Mendes. Avaliação in silico da atividade antifúngica de compostos sulfurados presentes na Petiveria alliacea L. **Revista de Casos e**

Consultoria, v. 12, n. 1, p. e25546-e25546, 2021. Disponível em:<https://periodicos.ufrn.br/casoseconsultoria/article/view/25546>. Acesso em: 21 de setembro de 2024.

MOCHIUTTI, Eric et al. Estudo in silico do potencial farmacológico do óleo essencial dos componentes majoritários do cipó dalho (Adenocalymma alliaceum). **In: Anais do XIII Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica**, 2019, São Paulo. p. 2583-2589. Blucher, 2019. ISSN 2359-1757. Disponível em:<doi.org/10.5151/cobecic2019-PBIO26>. Acesso em: 27 de setembro de 2024.

MÓL, Victor Comini; PASSADOR-SANTOS, Fabrício. Estudo da imunoistoquímica de bax e bcl-2 em ameloblastomas unicísticos. **Caderno Pedagógico**, v. 21, n. 5, p. e4092-e4092, 2024. Disponível em:<https://doi.org/10.54033/cadpedv21n5-015>. Acesso em: 22 de setembro de 2024.

MOTTA, Luiz Frederico; CORREA, Gabriel Veloso; CEZÁRIO, Stephanie Priscila De Sousa. Análise Farmacocinética e Toxicológica in silico para Derivados de Flavonas. **In: OPEN SCIENCE RESEARCH X.** Editora Científica Digital, 2023. p. 175-191. Disponível em:<https://dx.doi.org/10.37885/230211898>. Acesso em: 27 de setembro de 2024.

NEUMANN, Solange Maria Freire. **Doença de Alzheimer na família: repercurssões sobre o seu funcionamento.** 2010. 123 f. Dissertação de Mestrado (Psicologia Clínica) - Universidade Católica de Pernambuco (UNICAP), Recife - PE, 2010. Disponível em:<http://tede2.unicap.br:8080/handle/tede/130>. Acesso em: 16 de março de 2024.

PIOLI, Renan Moraes. **Efeito da modificação da porção imínica de betalaínas sobre as suas propriedades eletrônicas**. 2018. Tese (Doutorado em Química) - Instituto de Química, University of São Paulo, São Paulo, 2018. Disponível em:<https://doi.org/10.11606/T.46.2019.tde-07022019-140702>. Acesso em: 23 de outubro de 2024.

RADHA, Gudapureddy; RAGHAVAN, Sathees C. BCL2: A promising cancer therapeutic target. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Cancer**, v. 1868, n. 1, p. 309-314, 2017. Disponível em:<https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2017.06.004>. Acesso em: 22 de setembro de 2024.

ROCHA, Eduardo P. et al. Planejamento Fatorial para a Investigação das Propriedades Espectroscópicas, Efeitos Relativísticos e de Solvatação de Derivados Halogenados da 2-Amino-1, 4-Naftoquinona. **Revista Processos Químicos**, v. 9, n. 18, p. 81-87, 2015. Disponível em:<https://doi.org/10.19142/rpq.v9i18.262>. Acesso em: 23 de outubro de 2024.

RODRIGUES, J. S. da M.; COSTA, E. D. In silico ADME/T prediction of novel potential inhibitors against dengue virus. **Research, Society and Development**, [S.

l.], v. 10, n. 4, p. e53010414459, 2021. Disponível em:<https://doi.org/10.33448/rsd-v10i4.14459>. Acesso em: 27 de setembro de 2024.

SANTOS, Carmo Isabel Costa Fernandes Madaleno dos. **A funcionalização de esteroides com heterociclos no desenvolvimento de potenciais inibidores da glicoproteína-P.** 2017. Tese de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas - Universidade da Beira Interior (UBI), Portugal. 2017. Disponível em:<http://hdl.handle.net/10400.6/7949>. Acesso em: 27 de setembro de 2024.

SANTOS, Lizandra Vitoria de Souza et al. Heterocyclic phytometabolites formononetin and arbutin prevent in vitro oxidative and alkylation-induced mutagenicity. **Toxicology Reports**, v.13, p. 101753, 2024. Disponível em:<https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2024.101753>. Acesso em: 19 de outubro de 2024.

SANTOS, Victória Laysna dos Anjos; GONSALVES, Arlan de Assis; ARAÚJO, Cleônia Roberta Melo. Abordagem didática para o desenvolvimento de moléculas bioativas: regra dos cinco de Lipinski e preparação de heterociclo 1, 3, 4-oxadiazol em forno de micro-ondas doméstico. **Química Nova**, v. 41, n. 1, p. 110-115, 2018. Disponível em:<https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170135>. Acesso em: 27 de setembro de 2024.

SILVA, Francisca Mayla Rodrigues. **Encapsulamento de chá verde (camellia sinensis var assamica) por "spray dryer" com goma de cajueiro/maltodextrina.** 2016. 110 f. Dissertação de Mestrado (Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza - CE, 2016. Disponível em:<http://www.repositorio.ufc.br/handle/riufc/30518>. Acesso em: 16 de março de 2024.

SILVA, H. H. M.; ALVES, M. H. P.; GONÇALVES, R. J. S.; PEREIRA, N. de A.; AFFONSO, C. R. G. Molecular modification proposal: analysis of physicochemical, pharmacokinetic and toxicological parameters "in silico" of barbituric drugs . **Research, Society and Development**, [S. l.], v. 11, n. 13, p. e5291111335680, 2022. Disponível em:<https://doi.org/10.33448/rsd-v11i13.35680>. Acesso em: 21 de setembro de 2024.

SILVA, Laise Duanne Gomes da et al. A inibição da telomerase em oncócitos: o fim da imortalidade celular. **Revista Brasileira Militar de Ciências,** v. 5, n. 12, 2019. Disponível em:<https://doi.org/10.36414/rbmc.v5i12.12>. Acesso em: 22 de setembro de 2024.

SILVA, Liliana Sofia da. **Estratégias de prevenção primária e secundária da doença de Alzheimer.** Dissertação de Mestrado (Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade do Algarve (UAlg), Campus de Gambelas, Faro, Portugal, 2022. Disponível em:<http://hdl.handle.net/10400.1/19319>. Acesso em: 16 de março de 2024.

SINGH, Rahul et al. Discovery and in silico evaluation of aminoarylbenzosuberene molecules as novel checkpoint kinase 1 inhibitor determinants. **Genomics**, v. 113, n. 1, p. 707-715, 2021. Disponível em:<https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2020.10.001>. Acesso em: 27 de setembro de 2024.

SINGH, Rahul et al. Discovery and in silico evaluation of aminoarylbenzosuberene molecules as novel checkpoint kinase 1 inhibitor determinants. **Genomics**, v. 113, n. 1, p. 707-715, 2021. Disponível em:<https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2020.10.001>. Acesso em: 27 de setembro de 2024.

SOLIMAN, Kareem et al. Predicting the membrane permeability of organic fluorescent probes by the deep neural network based lipophilicity descriptor DeepFl-LogP. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 6991, 2021. Disponível em:<https://doi.org/10.1038/s41598-021-86460-3>. Acesso em: 27 de setembro de 2024.

SOUSA, YRF; COSTA JÚNIOR, JS; SILVA, DC. Estudos in silico ADME para uma série de inibidores da enzima conversora da angiotensina (ECA). **In: Anais do XXI Simpósio Brasileiro de Computação Aplicada à Saúde.** SBC, 2021. p. 416-421. Disponível em:<https://doi.org/10.5753/sbcas.2021.16085>. Acesso em: 20 de janeiro de 2024.

TAVARES, Gabriel Guimarães; ALVES, Suzana Ferreira; BORGES, Leonardo Luiz. Investigação in silico de compostos bioativos de Croton linearifolius Müll. Arg com atividade antidepressiva. **Revista Brasileira Militar de Ciências**, [S. l.], v. 6, n. 16, 2020. Disponível em:<https://doi.org/10.36414/rbmc.v6i16.58>. Acesso em: 16 de março de 2024.

TEIXEIRA, Iris S.; MILAGRE, Cintia DF. Evolução dirigida de enzimas: pequenas modificações, melhores biocatalisadores. **Química Nova**, v. 43, n. 6, p. 773-786, 2020. Disponível em:<https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170538>. Acesso em: 21 de setembro de 2024.

WEI, Katherine; DELPRATO, Anna. Integrated Analysis of the Association Between Alzheimer's Disease (AD) and Cardiovascular Disease (CVD). **medRxiv**, p. 2021.06. 15.21258992, 2021. Disponível em:<https://doi.org/10.1101/2021.06.15.21258992>. Acesso em: 22 de setembro de 2024.