

## 4.1 Artigo 1

## Endocrine, Metabolic & Immune Disorders - Drug Targets

**Título:** Caracterização in silico da taxifolina como um ligante duplo da ciclooxigenase: possível papel na limitação da inflamação?

**Título abreviado:** Taxifolina é um ligante duplo da ciclooxigenase.

### **Autores:**

José Calado Quilenda 1, 6; Sanseray da Silveira Cruz-Machado 1, 6; Malu de Andrade Marques 1, 6; Paulo Adenes Teixeira Coelho 2; João Gabriel Leite da Silva 2; Jonas Araújo de Sousa 2; Gabriela Alves do Nascimento 2; Francisco Bastos Cavalcante Sobrinho 2; Sacha Aubrey Alves Rodrigues Santos 3; Luzia Débora Saldanha Marques 2; Daniela Braga de Souza 2, 4, Maria Rayane Correia de Oliveira 2; Adriana Rolim Campos 3; Antônio Eufráasio Vieira-Neto 3; Francisco Ernani Alves Magalhães 2,4; Wagner Rodrigues de Assis Soares 1,6\*

### **Afiliações do autor:**

1. Programa de pós-graduação em Enfermagem e Saúde (PPGES). Departamento de Saúde II. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Jequié, Bahia, Brasil, CEP: 45.200-000.
2. Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Saúde (PPGNS), Grupo de Estudos NutriFisher (GENFISH), Universidade Estadual do Ceará (UECE), Fortaleza, Ceará, Brasil, CEP 60714-903
3. Núcleo de Biologia Experimental (NUBEX), Universidade de Fortaleza, UNIFOR, Fortaleza, Ceará, Brasil, CEP: 60811-905
4. Laboratório de Bioprospecção de Produtos Naturais e Biotecnologia (LBPNB), Universidade Estadual do Ceará, Rua Solon Medeiros, S/N, BR-020. Bairro Bezerra e Sousa, Tauá, Ceará, Brasil, CEP: 63660-000
5. Universidade de Fortaleza, Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO), Núcleo de Biologia Experimental (NUBEX), Fortaleza, Ceará CEP: 60.811-650, Brasil
6. Laboratório de Ciências Biomédicas e Inovação. Departamento de Saúde II. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Jequié, Bahia, Brasil. CEP: 45.200-000

### **\* Autor correspondente:**

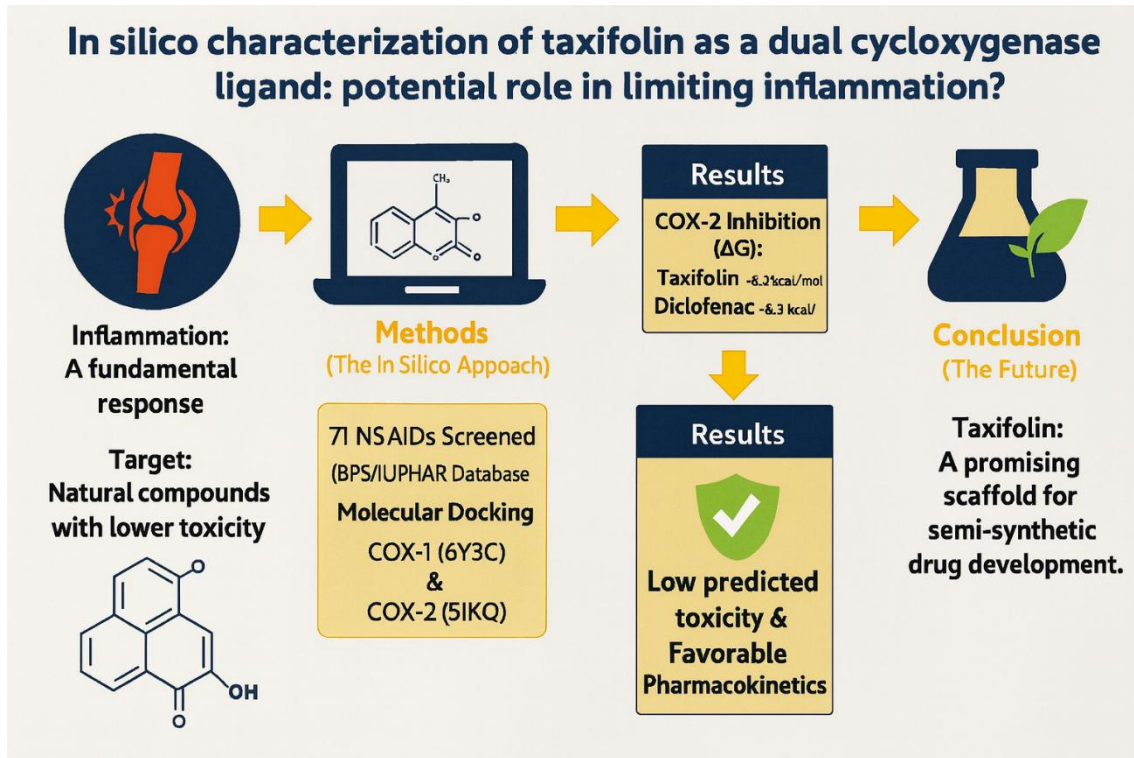
Wagner Rodrigues de Assis Soares: Programa de Pós-Graduação em Enfermagem e Saúde (PPGES). Departamento de Saúde II. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Jequié, Bahia, Brasil, CEP 45.200-000. E-mail: wrasoares@uesb.edu.br

## Resumo Estruturado

**Introdução/Objetivos:** A inflamação é uma resposta fisiológica fundamental. No entanto, quando crônica, torna-se uma condição debilitante e de difícil manejo clínico. Os medicamentos atualmente disponíveis, como os anti-inflamatórios não esteroides (AINEs), embora eficazes, apresentam limitações significativas, incluindo toxicidade gastrointestinal e hepática, além de eficácia reduzida durante o tratamento prolongado. Nesse contexto, há um crescente interesse em compostos naturais com perfis farmacológicos distintos, como a taxifolina, um flavanonol encontrado em diversas espécies vegetais. Assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar o potencial anti-inflamatório *in silico* da taxifolina em comparação com medicamentos utilizados terapêuticamente. **Métodos:** Após a triagem de 71 AINEs identificados no Guia de Farmacologia BPS/IUPHAR e na literatura, seus perfis de ligação *in silico* foram comparados aos da taxifolina para avaliar a atividade contra as ciclooxigenases (COX-1: PDB ID 6Y3C e COX-2: PDB ID 5IKQ). Adicionalmente, os parâmetros ADMET *in silico* dos compostos mais promissores foram avaliados, com foco nas propriedades farmacodinâmicas, farmacocinéticas e toxicológicas. **Resultados:** As análises de triagem virtual revelaram que diversas moléculas apresentaram potencial para inibir a COX-1, notadamente taxifolina (-7,5 kcal/mol), naproxeno (-7,9 kcal/mol), ácido meclofenâmico (-7,9 kcal/mol), suprofen (-7,7 kcal/mol), cetoprofen (-7,7 kcal/mol) e diclofenaco (-6,6 kcal/mol). Em relação à inibição da COX-2, a taxifolina (-8,2 kcal/mol), o diclofenaco (-8,3 kcal/mol), o valdecoxibe (-9,1 kcal/mol), o flurbiprofen (-9,1 kcal/mol), o rofecoxibe (-9,3 kcal/mol) e o celecoxibe (-10,5 kcal/mol) demonstraram as afinidades de energia de ligação mais favoráveis. As análises ADMET indicaram que a taxifolina apresenta um perfil farmacocinético e de segurança favorável, com menor toxicidade prevista em comparação com os AINEs avaliados. **Conclusão:** Em conjunto, este estudo fornece evidências que apoiam a taxifolina, um composto natural de interesse translacional, como uma estrutura para o desenvolvimento de análogos semissintéticos promissores.

**Palavras-chave:** Produtos naturais; Flavonoides; Taxifolina; Inflamação; Ciclooxigenase; Medicamentos anti-inflamatórios; Triagem *in silico*.

## Resumo gráfico



## 1. Introdução:

As ciclooxigenases (COX, prostaglandina G/H sintase, PGHS) catalisam a conversão do ácido araquidônico em prostaglandina G<sub>2</sub> (PGG<sub>2</sub>) e, subsequentemente, em prostaglandina H<sub>2</sub> (PGH<sub>2</sub>), precursora das prostaglandinas, prostaciclina e tromboxanos (1). Esses mediadores participam da perfusão renal, proteção gástrica, função plaquetária, homeostase vascular e respostas patológicas como dor, febre e inflamação aguda e crônica. Portanto, a compreensão das características estruturais e da localização subcelular da COX-1 e da COX-2 pode revelar sítios de ligação essenciais baseados na estrutura, fomentando assim o desenvolvimento de fármacos e estratégias de reposicionamento direcionadas a vias anti-inflamatórias (2, 3).

Embora as ciclooxigenases catalisem a mesma reação, as isoformas diferem na regulação, distribuição tecidual e consequências da inibição. A COX-1 é predominantemente constitutiva, sustentando prostaglandinas gastroprotetoras, modulando o fluxo sanguíneo renal e gerando tromboxano A<sub>2</sub> nas plaquetas, o que explica grande parte dos efeitos adversos gastrointestinais e renais associados aos anti-inflamatórios não esteroides (AINEs) não seletivos (4). A COX-2, em contraste, é induzida por citocinas, padrões moleculares associados a patógenos e fatores de crescimento, atuando como fonte de prostaglandinas pró-inflamatórias em tecidos lesados e constituindo o principal alvo de inibidores seletivos (3, 5).

Em nível estrutural, substituições de aminoácidos perto do canal de acesso geram um bolso lateral maior na COX-2, capaz de acomodar coxibs e outros inibidores volumosos (2). Esse conhecimento impulsionou abordagens *in silico*, como triagem virtual e acoplamento molecular, combinadas com cálculos de energia livre e dinâmica molecular, para prever afinidade, pose de ligação e seletividade de isoformas, distinguindo assim padrões de interação entre coxibs e AINEs clássicos e abrindo caminhos para investigar pequenas moléculas de origem natural (6, 7).

A taxifolina (di-hidroquercetina), um flavonóide presente em diversas plantas e alimentos, exibe atividade antioxidante e evidências crescentes de efeitos anti-inflamatórios. Estudos *in vitro* e *in vivo* relatam reduções em diversas citocinas e mediadores inflamatórios (como IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , iNOS e COX-2), bem como modulação de vias de sinalização (como MAPK e PI3K/Akt), com efeitos protetores em modelos de fibrose hepática, lesão isquêmica e disfunção vascular (8, 9). Em muitos desses estudos, entretanto, a interferência com a COX-2 é descrita principalmente como modulação da expressão, em vez de inibição direta da atividade catalítica, o que representa uma lacuna em relação ao mecanismo de interação com o sítio ativo da enzima.

Apesar do crescente número de evidências que apoiam a relevância biológica da taxifolina, os mecanismos precisos subjacentes à sua atividade anti-inflamatória permanecem incompletamente compreendidos. A maioria dos relatos experimentais enfatiza sua capacidade de modular cascatas de sinalização a montante e reduzir a expressão de mediadores pró-inflamatórios; contudo, poucos estudos abordaram se a taxifolina pode interagir diretamente com alvos enzimáticos que são centrais para o processo inflamatório. Entre estes, as ciclooxigenases (COX-1 e COX-2) desempenham um papel fundamental, pois catalisam a biossíntese de prostanoídes que regulam o tônus vascular, a agregação plaquetária e a amplificação das respostas inflamatórias. A distinção entre COX-1, uma isoforma constitutiva associada a funções homeostáticas, e COX-2, uma isoforma induzível ligada à inflamação patológica, orientou o desenvolvimento racional de inibidores seletivos nas últimas décadas (3). Entretanto, os efeitos adversos dos AINEs não seletivos e as limitações dos coxibs destacam a necessidade de alternativas mais seguras, com eficácia e tolerabilidade equilibradas. Nesse contexto, compostos naturais como a taxifolina oferecem uma estrutura promissora, combinando perfis farmacológicos favoráveis com

potencial de toxicidade reduzido (8, 9). Preencher a lacuna entre os efeitos biológicos descritivos e as interações em nível molecular é essencial para o avanço das aplicações translacionais. Abordagens computacionais, incluindo ancoragem molecular, triagem virtual e predições ADMET, fornecem ferramentas poderosas para explorar afinidades de ligação, seletividade de isoformas e comportamento farmacocinético *in silico*, complementando assim os dados experimentais e orientando as estratégias de desenvolvimento de fármacos (6, 7). Ao situar a taxifolina nesse contexto, torna-se possível avaliar não apenas sua capacidade teórica de inibir as enzimas COX, mas também sua adequação como composto líder para o planejamento de análogos semissintéticos. Em conjunto, essas considerações reforçam a justificativa para uma investigação *in silico* sistemática, vinculando diretamente a relevância biológica à modelagem farmacológica preditiva e abrindo caminho para aplicações translacionais na descoberta de fármacos anti-inflamatórios. Assim, este estudo tem como objetivo investigar a interação e analisar as propriedades físico-químicas, farmacocinéticas e toxicológicas (ADMET) da taxifolina em comparação com o estabelecido. Inibidores da ciclooxigenase usando simulações preditivas *in silico*.

Assim, este estudo tem como objetivo investigar a interação e analisar as propriedades físico-químicas, farmacocinéticas e toxicológicas (ADMET) da taxifolina em comparação com o estabelecido. Inibidores da ciclooxigenase usando simulações preditivas *in silico*.

## 2. Materiais e métodos

### 2.1. Ferramentas de triagem virtual, acoplamento molecular e ADMET

#### 2.1.1. Pesquisa no DrugBank

Foi realizada uma busca no banco de dados IUPHAR/BPS Guide to Pharmacology (<https://www.guidetopharmacology.org>), do qual foram selecionadas apenas as estruturas de 33 medicamentos anti-inflamatórios (AINEs) usados na terapia clínica que atuam seletivamente na COX-1 e 38 seletivos para COX-2, totalizando 71 compostos anti-inflamatórios.

#### 2.1.2. Ferramentas de conjunto de dados, triagem virtual, ancoragem molecular e ADMETox

Todas as moléculas foram verificadas e preparadas utilizando o software Marvin Sketch™. As estruturas moleculares foram baixadas no formato SMILES e posteriormente convertidas para o formato 3D SDF utilizando o Open Babel™ (<https://sourceforge.net/projects/openbabel/>) para os cálculos de ancoragem molecular. As estruturas cristalográficas de COX-1 (PDB ID: 6Y3C, resolução de 3,36 Å) e COX-2 (PDB ID: 5IKQ, resolução de 2,41 Å), ambas de *Homo sapiens*, foram obtidas do Protein Data Bank (PDB, <https://www.rcsb.org>). As estruturas proteicas foram preparadas utilizando o AutoDockTools™, incluindo a remoção das moléculas de água cristalográficas, a adição de hidrogênios polares e a atribuição de cargas, e posteriormente convertidas para o formato PDBQT para ancoragem molecular.

Simulações de acoplamento molecular entre as proteínas e os ligantes (71 AINEs seletivos) foram realizadas usando o AutoDock Vina™ (<https://vina.scripps.edu/downloads/>). A taxifolina, o composto natural de interesse neste estudo, foi adicionada ao painel como molécula de teste, embora não esteja listada no banco de dados como um inibidor clássico da ciclooxigenase.

Os resultados do acoplamento molecular e a avaliação de cada complexo receptor-ligante, incluindo a energia de afinidade de ligação ( $\text{kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ ) e o posicionamento do ligante no sítio ativo das ciclooxigenases 1 e 2, foram analisados utilizando o software PyMOL 2.1™, sendo selecionada para análises posteriores a

conformação que apresentou a menor energia de afinidade de ligação. Nove poses do ligante foram geradas para cada complexo, com suas respectivas energias de afinidade de ligação registradas. Posteriormente, todas as melhores poses ligante-proteína selecionadas foram representadas graficamente utilizando o PyMOL 2.1<sup>TM</sup> (<https://www.pymol.org/>), e seus respectivos mapas de interação 2D foram gerados utilizando o software Discovery Studio 4.5<sup>TM</sup> (<https://discover.3ds.com/discovery-studio-visualizer-download>). As propriedades ADMET foram avaliadas usando os softwares Data Warrior<sup>TM</sup> e PkCSM<sup>TM</sup> (<https://biosig.lab.uq.edu.au/pkcsml/>).

### 3. Resultados

#### 3.1 Acomodamento molecular da taxifolina e dos AINEs com a COX-1

Conforme apresentado na Figura 1, a taxifolina se acomoda no canal catalítico da ciclooxygenase-1 (COX-1, PDB ID: 6Y3C), ocupando a cavidade de ligação interna típica dos AINEs. A visualização tridimensional revela que o anel aromático central permanece bem inserido na região hidrofóbica do sítio ativo, enquanto os grupos hidroxila periféricos se estendem em direção aos resíduos polares que circundam a cavidade, favorecendo a formação de interações específicas. O mapa de interação bidimensional revela que a taxifolina estabelece uma rede de contatos de van der Waals com diversos resíduos do sítio ativo, além de múltiplas ligações de hidrogênio convencionais com aminoácidos polares, como Gln192, Asn515, Gly354, Ser353 e Ser516. Interações hidrofóbicas e interações Pi-alquila também são observadas, envolvendo principalmente resíduos como His90, Thr94, Pro191, Pro514, Gly193, His95, His513 e Arg581 (Figura 2). Coletivamente, esse padrão de ligações de hidrogênio, contatos hidrofóbicos e interações Pi sugere uma ancoragem estável da taxifolina no sítio ativo da COX-1, consistente com o potencial inibitório proposto para esse composto.

Os resultados da modelagem molecular preditiva com COX-1 (PDB ID: 6Y3C) são apresentados na tabela 1 e sugerem uma afinidade favorável de todos os ligantes pelo sítio ativo, com energias de ligação calculadas variando de  $-6,6$  a  $-7,9$  kcal·mol<sup>-1</sup>. No modelo in silico, o ácido meclufenâmico e o naproxeno exibiram as energias mais negativas ( $-7,9$  kcal·mol<sup>-1</sup>), seguidos pelo suprofeneno e cetoprofeneno ( $-7,7$  kcal·mol<sup>-1</sup>). A taxifolina apresentou uma energia de ligação estimada em  $-7,5$  kcal·mol<sup>-1</sup>, próxima aos melhores valores obtidos para os AINEs de referência. Esses achados indicam, em nível preditivo, uma potencial capacidade de interação da taxifolina com a COX-1 superior à observada para o diclofenaco ( $-6,6$  kcal·mol<sup>-1</sup>), embora a validação experimental ainda seja necessária.

Do ponto de vista estrutural, o padrão de interação calculado mostra que os ligantes exploram, em diferentes graus, resíduos considerados críticos para o sítio catalítico da COX-1, como Arg120, Gln192, Tyr355, Tyr385, Ile523 e Ser530, conforme descrito (10). O diclofenaco depende principalmente de interações de van der Waals com Tyr355, Tyr385 e Phe518, bem como de uma interação Pi-alquila com Ile523, além de exibir uma interação acceptor-acceptor desfavorável com Tyr385, o que pode contribuir para sua energia de ligação menos negativa. Em contraste, a taxifolina estabelece, no modelo, ligações de hidrogênio com Gln192, Ser516, His90 e His513, além de vários contatos de van der Waals ao longo do canal hidrofóbico, sugerindo uma ancoragem estável, embora com um padrão de interação parcialmente distinto daquele dos AINEs clássicos. De acordo com os cálculos, o suprofeneno, o cetoprofeneno, o ácido meclufenâmico e o naproxeno exibem perfis de interação compatíveis com inibidores da COX-1, combinando interações  $\pi$ -cátion com Arg120, contatos  $\pi$ -alquila e  $\pi$ -sigma, e múltiplas ligações de hidrogênio com Tyr355, Tyr385 e Ser530. Esses resultados, alinhados com o modelo estrutural da enzima, reforçam o papel desses resíduos na estabilização do ligante. Quando comparado a esses

fármacos, o taxifolina ocupa o mesmo sítio catalítico e apresenta uma afinidade prevista semelhante, o que pode indicar um possível mecanismo de inibição competitiva (Tabela 1).

### 3.2 Acoplamento molecular da taxifolina e dos AINEs com a COX-2

O modelo de acoplamento sugere que a taxifolina também se acomoda no canal catalítico da ciclooxigenase-2 (COX-2, PDB ID: 5IKQ), em uma região compatível com o sítio de ligação descrito para outros ligantes dessa enzima. Na visualização tridimensional, o flavonóide ocupa uma cavidade alongada dentro da proteína, com o núcleo aromático alinhado ao longo do túnel hidrofóbico e os grupos hidroxila orientados para a superfície interna do sítio ativo (Figura 3). O mapa de interação bidimensional indica que a taxifolina estabelece diversas forças de van der Waals com resíduos como Leu352, Val349, Leu384, Phe381 e Gly526, além de ligações de hidrogênio convencionais com Tyr385 e Ser530. Interações  $\pi$ - $\sigma$  e  $\pi$ -alquila também são observadas, contribuindo para a acomodação do anel aromático no sítio hidrofóbico. Uma interação desfavorável entre doadores com HisA90 também está presente, o que pode atenuar parte da estabilização, mas não impede o conjunto geral de interações favoráveis (Figura 4). Em conjunto, esses resultados *in silico* sugerem um modo de ligação estável da taxifolina à COX-2, fornecendo uma base estrutural para hipóteses sobre a possível modulação dessa isoforma em estudos futuros.

A Tabela 2 resume os resultados preditivos de acoplamento molecular com COX-2 (PDB ID: 5IKQ), mostrando energias de ligação que variam de  $-8,2$  a  $-10,5$  kcal·mol<sup>-1</sup>. Entre os inibidores de referência, o celecoxibe apresentou a energia mais negativa ( $-10,5$  kcal·mol<sup>-1</sup>), seguido pelo rofecoxibe ( $-9,3$  kcal·mol<sup>-1</sup>), valdecoxibe e flurbiprofeno (ambos com  $-9,1$  kcal·mol<sup>-1</sup>). A energia de ligação estimada para a taxifolina ( $-8,2$  kcal·mol<sup>-1</sup>) foi próxima à do diclofenaco ( $-8,3$  kcal·mol<sup>-1</sup>), sugerindo, em nível *in silico*, uma afinidade potencialmente relevante da molécula pelo sítio ativo da COX-2, embora menor do que a observada para COXibs seletivos. Esses resultados são consistentes com a organização do sítio catalítico e com a importância das interações específicas com os resíduos de COX-2 discutidas na literatura.

O padrão de interação calculado indica que os ligantes exploram diferencialmente resíduos-chave do sítio ativo, como His90, Arg120, Gln192, Tyr355, Tyr385, Arg513, Phe518, Val523 e Ser530. Para a taxifolina, o modelo indica interações de van der Waals distribuídas ao longo da cavidade e ligações de hidrogênio com Tyr355 e Tyr385, bem como um contato  $\pi$ - $\sigma$  com Val523; no entanto, prevê-se uma interação doador-doador desfavorável com His90 (Udd), que pode atenuar parte da estabilização do complexo. Em contraste, os coxibs (valdecoxib, rofecoxib e celecoxib) exibem combinações mais extensas de ligações de hidrogênio (Co.hB) com His90, Arg120, Gln192, Tyr355 e Ser530, além de empilhamento  $\pi$  (Pi.Sig) e interações Pi-alquil com Tyr355, Phe518 e Val523, um padrão consistente com a alta afinidade e seletividade para COX-2 descrita (2). Esses dados preditivos sugerem que a taxifolina pode se posicionar dentro do mesmo sítio catalítico ocupado pelos inibidores clássicos, contribuindo para a formulação de hipóteses sobre a possível modulação da COX-2.

### 3.3 Previsão *in silico* das propriedades de Absorção, Distribuição, Metabolismo, Excreção e Toxicidade (ADMET)

As propriedades físico-químicas previstas para a taxifolina indicam uma molécula com fórmula molecular C<sub>15</sub>H<sub>12</sub>O<sub>7</sub> e massa molar de 304,25 g/mol. O baixo valor da fração Csp<sup>3</sup> (0,13) e o número reduzido de ligações rotativas (RB = 1) sugerem uma estrutura relativamente rígida. Foram identificados sete aceptores de ligações de

hidrogênio e cinco doadores de ligações de hidrogênio (HBA = 7; HBD = 5), juntamente com uma refratividade molar (MR) de 74,76 e uma área de superfície polar topológica (TPSA) de 127,45 Å<sup>2</sup>. O valor de LogP de 1,18, associado à classificação como solúvel pelo modelo ESOL, indica uma molécula com polaridade intermediária e boa solubilidade aquosa. A estrutura tridimensional e o SMILES canônico da taxifolina, bem como o gráfico de radar de suas propriedades, são apresentados na Tabela 3.

Os parâmetros físico-químicos avaliados para os compostos revelam um conjunto de características amplamente compatíveis com perfis favoráveis de absorção e permeabilidade, de acordo com a Regra dos Cinco de Lipinski. Todos os ligantes apresentaram zero violações, indicando que permanecem dentro dos limites clássicos para peso molecular, lipofilicidade, capacidade de doação e aceitação de ligações de hidrogênio e área de superfície polar. A taxifolina destacou-se por exibir maior polaridade (PSA = 127,45 Å<sup>2</sup>) e um maior número de grupos doadores e aceptores de ligações de hidrogênio (HBD = 5; HBA = 7) quando comparada aos AINEs de referência, sugerindo um caráter mais hidrofílico. Essa distinção estrutural também se refletiu no menor valor de LogP (1,18), indicando lipofilicidade reduzida em relação a moléculas como diclofenaco, flurbiprofeno e ácido meclofenâmico, cujos valores de LogP variaram de 2,5 a 4,7 (Tabela 3). Este conjunto de propriedades posiciona a taxifolina como um composto com boa solubilidade e potencial para alta absorção em ambientes aquosos, embora sua área de superfície polar expandida possa limitar a permeabilidade em certos tecidos quando comparada a AINEs mais lipofílicos. Contudo, seu peso molecular moderado (304,25 g/mol) e a ausência de violações das regras de fármaco-like corroboram sua adequação como candidato farmacológico. Entre os compostos sintéticos avaliados, observou-se um padrão relativamente homogêneo: todos apresentaram valores de PSA entre 99 e 148 Å<sup>2</sup>, valores de LogP variando de 2,5 a 4,7 e pesos moleculares abaixo de 400 g/mol, consistentes com o perfil de fármacos anti-inflamatórios amplamente utilizados.

Considerando o módulo de propriedades farmacocinéticas, a taxifolina apresentou previsão de alta absorção gastrointestinal (GIA alta) e ausência de penetração significativa através da barreira hematoencefálica (BHE não). O composto não foi identificado como substrato da glicoproteína P (P-gpS não) e não exibiu potencial inibitório relevante em relação às principais isoformas do citocromo P450 avaliadas (CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6 e CYP3A4, todas classificadas como não atuando ou interferindo no metabolismo dessas enzimas). O valor de Log K<sub>p</sub> de -7,48 cm/s é consistente com baixa permeabilidade cutânea (Tabela 4).

Em relação aos perfis de lipofilicidade e de semelhança a fármacos, a taxifolina não apresentou violações das regras clássicas de Lipinski, Ghose, Veber, Egan e Muegge (todas com zero violações). O escore de biodisponibilidade (BAS) foi de 0,55, indicando uma probabilidade moderada de boa biodisponibilidade oral, e nenhum alerta estrutural foi detectado. O parâmetro de semelhança a um composto líder também foi zero, enquanto o escore de acessibilidade sintética (SA = 3,51) sugere um nível intermediário de complexidade sintética (Tabela 5). Em conjunto, esses resultados indicam que a taxifolina exibe um perfil *in silico* compatível com um candidato promissor, combinando propriedades físico-químicas favoráveis, bom potencial de absorção oral e ausência de alertas estruturais importantes.

De acordo com o perfil de toxicidade, os valores de DL<sub>50</sub> e a toxicidade máxima tolerada em humanos prevista para a taxifolina situam-se dentro de uma faixa considerada segura para ingestão humana, particularmente quando se consideram os valores de toxicidade oral crônica em ratos (LOAEL), em comparação com os AINEs. Os compostos naturais apresentaram uma margem de segurança mais ampla para uso crônico. Além disso, não

foram observados alertas para toxicidade mutagênica, tumorigênica, no sistema reprodutivo ou irritante, enquanto que alertas foram identificados para diclofenaco, suprofen, rofecoxibe e ácido meclofenâmico.

#### 4. Discussão

A inflamação continua sendo um grande desafio clínico, não apenas devido à sua alta prevalência em doenças musculoesqueléticas, autoimunes e metabólicas, mas também devido ao seu impacto socioeconômico e à redução substancial na qualidade de vida dos pacientes. Embora os anti-inflamatórios não esteroides (AINEs) sejam amplamente prescritos, suas limitações são bem documentadas e estão amplamente associadas a efeitos adversos gastrointestinais e hepáticos, bem como a um risco cardiovascular aumentado, particularmente durante o uso prolongado (11–14). Nesse contexto, há um crescente interesse em alternativas terapêuticas mais seguras, incluindo compostos naturais com potencial farmacológico distinto, como os flavonoides (15, 16).

A taxifolina (di-hidroquercetina) é um flavanonol encontrado em diversas espécies vegetais, incluindo *Larix sibirica* e *Silybum marianum* (17). Estudos pré-clínicos demonstraram suas propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e imunomoduladoras, sugerindo seu potencial como agente terapêutico em condições inflamatórias e metabólicas (18). A capacidade da taxifolina de modular vias de sinalização relacionadas ao estresse oxidativo e às respostas inflamatórias, como NF- $\kappa$ B e MAPK, reforça ainda mais sua relevância como um promissor candidato anti-inflamatório (15). A aplicação de abordagens *in silico*, incluindo ancoragem molecular e análises ADMET, permite a identificação de potenciais interações com alvos farmacológicos relevantes, como as ciclooxigenases (COX-1 e COX-2), antes de avançar para estudos *in vitro* e *in vivo* (19, 20).

Os resultados *in silico* obtidos neste estudo demonstram que a taxifolina apresenta afinidade de ligação comparável tanto para COX-1 quanto para COX-2. Para COX-1, sua energia de ligação (-7,5 kcal/mol) foi comparável à de fármacos clássicos como o naproxeno (-7,9 kcal/mol) e o ácido meclofenâmico (-7,9 kcal/mol). Em relação à COX-2, a taxifolina (-8,2 kcal/mol) apresentou energia de ligação semelhante à do diclofenaco (-8,3 kcal/mol) e afinidades dentro da faixa competitiva em relação aos coxibs, como o rofecoxib (-9,3 kcal/mol) e o celecoxib (-10,5 kcal/mol). Esses achados sugerem que a taxifolina pode atuar como um inibidor duplo de COX, com potencial para reduzir a inflamação por meio de mecanismos semelhantes aos dos AINEs, mas possivelmente com menor toxicidade (18). Dado o número limitado de estudos que abordam os seus mecanismos de interação molecular com as ciclooxigenases humanas, estes resultados contribuem com novas informações sobre o seu potencial anti-inflamatório e perfil de segurança (21, 22).

A seletividade entre COX-1 e COX-2 é um aspecto crítico da farmacologia dos AINEs, visto que os fármacos que interagem seletivamente com o sítio ativo da COX-2 estão associados a uma melhor eficácia anti-inflamatória (21). Enquanto a inibição da COX-2 está ligada ao efeito anti-inflamatório desejado, a inibição da COX-1 pode levar a efeitos adversos gastrointestinais (23). O perfil observado para a taxifolina, caracterizado por afinidade moderada pela COX-1 e afinidade de ligação comparável pela COX-2, sugere um equilíbrio que poderia ser explorado para reduzir os efeitos colaterais sem comprometer a eficácia (16).

A taxifolina acomoda-se profundamente no canal catalítico da COX-1, ocupando a cavidade interna tipicamente associada à ligação de AINEs. Sua interação com aminoácidos na região hidrofóbica do sítio ativo favorece a ligação a resíduos polares circundantes, permitindo a formação de contatos de van der Waals e múltiplas ligações de hidrogênio convencionais, notadamente envolvendo His90. Essa interação sugere uma ancoragem estável, embora com um padrão de interação parcialmente distinto daquele dos AINEs clássicos, que não interagem

com esse resíduo. Esses resultados, alinhados com o modelo estrutural da enzima, sugerem um papel potencial desses resíduos na estabilização de um ligante natural quando comparado a AINEs sintéticos. A taxifolina ocupa o mesmo sítio catalítico e exibe afinidade prevista semelhante, corroborando um possível mecanismo de inibição competitiva (10).

Um modo de ligação semelhante foi observado para a taxifolina dentro do canal catalítico da ciclooxigenase-2 (COX-2, PDB ID: 5IKQ), em uma região consistente com o sítio de ligação descrito para outros inibidores da COX-2. A taxifolina estabeleceu interações de van der Waals, ligações de hidrogênio e interações  $\pi$ - $\sigma$  e  $\pi$ -alquila, contribuindo para a acomodação de seu anel aromático dentro do bolso hidrofóbico. Notavelmente, uma interação com His90 também foi identificada, a qual pode atenuar parcialmente a estabilização do complexo, mas não impede a formação de uma rede de interação favorável. Essa interação de resíduos também foi observada para celecoxib, rofecoxib e valdecoxib, que são inibidores altamente seletivos da COX-2 (24). Esses achados são consistentes com a organização do sítio catalítico e com a importância de interações específicas de resíduos na COX-2, refletindo um padrão compatível com a alta afinidade e seletividade descritas (2). Coletivamente, esses dados preditivos indicam que a taxifolina pode ocupar o mesmo sítio catalítico que os inibidores clássicos, contribuindo para hipóteses sobre sua potencial modulação da COX-2 (10).

Os flavonoides, amplamente distribuídos em espécies vegetais, apresentam diversas aplicações terapêuticas em humanos devido às suas propriedades antioxidantes, anticancerígenas, antivirais, anti-inflamatórias e antialérgicas, que foram extensivamente demonstradas em vários estudos pré-clínicos e clínicos, oferecendo, assim, perspectivas terapêuticas promissoras (25, 26). Essas propriedades sustentam sua ampla aplicabilidade na medicina (27). No entanto, uma compreensão abrangente de suas propriedades farmacocinéticas, características de similaridade a fármacos e perfis de segurança é essencial para a aplicabilidade translacional dessas moléculas em contextos clínicos (18, 28).

As análises ADMET revelaram que a taxifolina apresenta boa biodisponibilidade oral e ausência de alertas de toxicidade significativos, ao contrário de vários AINEs que frequentemente apresentam hepatotoxicidade e nefrotoxicidade durante o uso prolongado (22, 23). Além disso, a taxifolina demonstrou características farmacocinéticas previstas favoráveis, incluindo absorção adequada, perfil de distribuição apropriado, ausência de interação com enzimas CYP450 (sugerindo estabilidade metabólica) e excreção facilitada. Esses resultados reforçam a hipótese de que compostos naturais, como a taxifolina, podem oferecer oportunidades terapêuticas em comparação com os fármacos sintéticos tradicionais, particularmente para pacientes submetidos a tratamento de longo prazo para doenças inflamatórias crônicas e que apresentam maior risco de eventos adversos (29).

Apesar da ampla gama de propriedades benéficas, o desenvolvimento de fármacos à base de flavonoides é frequentemente dificultado pela sua baixa biodisponibilidade (30). No entanto, novas estratégias têm sido propostas para melhorar a sua biodisponibilidade *in vivo*, incluindo o desenvolvimento de sistemas de administração inovadores, como nanopartículas, lipossomas e carreadores lipídicos sólidos, com o objetivo de aumentar a estabilidade, a absorção e a liberação direcionada (28, 31). Além disso, modificações estruturais, incluindo metilação, acetilação e desidroxilação, têm sido empregadas como estratégias para alterar as características estruturais dos compostos originais, visando aumentar a absorção e a biodisponibilidade. Essas abordagens podem facilitar o desenvolvimento de uma série de novos compostos bioativos semissintéticos com potencial anti-inflamatório derivados da taxifolina (31).

Os resultados do presente estudo sugerem que a taxifolina pode ser considerada uma candidata promissora para o desenvolvimento de novos agentes anti-inflamatórios. Sua atividade multialvo, combinada com um perfil de segurança favorável, abre perspectivas para formulações farmacêuticas inovadoras, incluindo análogos semissintéticos projetados para otimizar a potência e a seletividade (18). Além disso, a taxifolina pode ser explorada em doenças inflamatórias crônicas, como artrite reumatoide, doenças cardiovasculares e distúrbios metabólicos, onde o controle da inflamação é essencial (32). O potencial translacional da taxifolina também se estende ao campo da imunomodulação, visto que os flavonoides têm sido associados à regulação das respostas imunes e à modulação de citocinas pró-inflamatórias. Essa característica pode ser particularmente relevante em doenças autoimunes e inflamatórias sistêmicas (31).

Apesar desses resultados promissores, é importante reconhecer as limitações inerentes aos estudos *in silico*. A precisão dos modelos de acoplamento molecular depende da qualidade das estruturas cristalográficas utilizadas e dos parâmetros computacionais aplicados (22). Além disso, os resultados obtidos não substituem a necessidade de validação experimental. Ensaios *in vitro* e *in vivo* são essenciais para confirmar a eficácia e a segurança da taxifolina, bem como para avaliar o metabolismo, a biodisponibilidade real e as potenciais interações medicamentosas (18, 32).

## 5. Conclusão

Os resultados *in silico* deste estudo demonstram que a taxifolina apresenta um perfil promissor como potencial agente anti-inflamatório, mostrando afinidade competitiva pelos sítios catalíticos de ambas as isoformas da ciclooxigenase, COX-1 e COX-2, com energias de ligação comparáveis às dos AINEs clássicos e dos coxibs utilizados clinicamente. As análises de acoplamento molecular indicaram que a taxifolina se acomoda de forma estável no canal catalítico de ambas as isoformas, estabelecendo interações favoráveis com resíduos-chave envolvidos na inibição enzimática, o que corrobora um possível mecanismo de inibição competitiva. Além disso, as previsões farmacocinéticas e toxicológicas revelaram um perfil ADMET favorável, caracterizado por boa absorção gastrointestinal, ausência de interações relevantes com isoformas do citocromo P450 e baixa toxicidade prevista, contrastando com os efeitos adversos comumente associados ao uso prolongado de AINEs sintéticos.

Em conjunto, os dados apoiam a taxifolina como um composto natural de interesse translacional, com potencial para o desenvolvimento de novos agentes anti-inflamatórios ou derivados semissintéticos visando otimizar a potência, a seletividade e a biodisponibilidade. No entanto, a validação experimental por meio de estudos *in vitro* e *in vivo* é necessária para confirmar sua eficácia farmacológica, segurança e aplicabilidade clínica.

**Aprovação Ética e Consentimento para Participação:** Não aplicável.

**Direitos Humanos e Direitos dos Animais:** Não aplicável.

**Conflito de interesses:** Os autores declaram não haver conflitos de interesse em relação a este artigo.

**Agradecimentos:** Os autores agradecem o apoio financeiro das agências e instituições de fomento que contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho, incluindo a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) e a Fundação Cearense de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP). JCQ é bolsista de pós-graduação do Programa de Mobilidade Internacional GCUB na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB). MAM é bolsista de pós-graduação na UESB. SSCM é pesquisador de pós-doutorado na UESB.

**Contribuições dos autores:** JCQ e WRAS realizaram a análise formal dos dados e prepararam as figuras e tabelas. JCQ, SSCM e WRAS conceberam o estudo e redigiram o manuscrito. WRAS forneceu recursos essenciais para o estudo. Todos os autores editaram, revisaram e aprovaram a versão final do manuscrito a ser enviada para a revista *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders - Drug Targets*.

## Referências

1. Ricciotti E, FitzGerald GA. Prostaglandins and inflammation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2011 May;31(5):986-1000. doi:10.1161/ATVBAHA.110.207449.
2. Orlando BJ, Malkowski MG. Crystal structure of rofecoxib bound to human cyclooxygenase-2. *Acta Crystallogr F Struct Biol Commun*. 2016 Oct 1;72(Pt 10):772-776. doi:10.1107/S2053230X16014230.
3. Ju Z, Li M, Xu J, Howell DC, Li Z, Chen FE. Recent development on COX-2 inhibitors as promising anti-inflammatory agents: The past 10 years. *Acta Pharm Sin B*. 2022 Jun;12(6):2790-2807. doi:10.1016/j.apsb.2022.01.002.
4. Smith WL, Langenbach R. Why there are two cyclooxygenase isozymes. *J Clin Invest*. 2001;107(12):1491-1495. doi:10.1172/JCI13271.
5. Faki Y, Er A. Different chemical structures and physiological/pathological roles of cyclooxygenases. *Rambam Maimonides Med J*. 2021 Jan 19;12(1):e0003. doi:10.5041/RMMJ.10426.
6. Bello-Vargas E, Leyva-Peralta MA, Gómez-Sandoval Z, Ordóñez M, Razo-Hernández RS. A computational method for the binding mode prediction of COX-1 and COX-2 inhibitors: analyzing the union of coxibs, oxicams, propionic and acetic acids. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2023 Dec 4;16(12):1688. doi:10.3390/ph16121688.
7. Ahmad V, Khan MI, Jamal QMS, Alzahrani FA, Albiheyri R. Computational molecular docking and simulation-based assessment of anti-inflammatory properties of *Nyctanthes arbor-tristis* Linn phytochemicals. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2024;17(1):18. doi:10.3390/ph17010018.

8. Zhang X, Lian X, Li H, Zhao W, Li X, Zhou F, Zhou Y, Cui T, Wang Y, Liu C. Taxifolin attenuates inflammation via suppressing MAPK signal pathway in vitro and in silico analysis. *Chin Herb Med*. 2022 Sep 1;14(4):554-562. doi:10.1016/j.chmed.2021.03.002.
9. Liu X, Liu W, Ding C, Zhao Y, Chen X, Ling D, Zheng Y, Cheng Z. Taxifolin, Extracted from Waste *Larix olgensis* Roots, Attenuates CCl<sub>4</sub>-Induced Liver Fibrosis by Regulating the PI3K/AKT/mTOR and TGF- $\beta$ 1/Smads Signaling Pathways. *Drug Des Devel Ther*. 2021 Feb 26;15:871-887. doi:10.2147/DDDT.S281369.
10. Kaur B, Singh P. Inflammation: Biochemistry, cellular targets, anti-inflammatory agents and challenges with special emphasis on cyclooxygenase-2. *Bioorg Chem*. 2022 Apr;121:105663. doi:10.1016/j.bioorg.2022.105663.
11. Vane JR, Botting RM. Anti-inflammatory drugs and their mechanism of action. *Inflamm Res*. 1998 Oct;47 Suppl 2:S78-87. doi:10.1007/s000110050284.
12. Warner TD, Mitchell JA. COX-2 selectivity alone does not define the cardiovascular risks associated with non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Lancet*. 2008 Jan 19;371(9608):270-3. doi:10.1016/S0140-6736(08)60137-3.
13. Moore RA, Derry S, McQuay HJ. Cyclo-oxygenase-2 selective inhibitors and nonsteroidal anti-inflammatory drugs: balancing gastrointestinal and cardiovascular risk. *BMC Musculoskelet Disord*. 2007 Aug 3;8:73. doi:10.1186/1471-2474-8-73.
14. Scheiman JM. Balancing risks and benefits of cyclooxygenase-2 selective nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Gastroenterol Clin North Am*. 2009 Jun;38(2):305-14. doi:10.1016/j.gtc.2009.03.006.
15. Panche AN, Diwan AD, Chandra SR. Flavonoids: an overview. *J Nutr Sci*. 2016;5:e47. doi:10.1017/jns.2016.41.
16. Safe S, Jayaraman A, Chapkin RS, Howard M, Mohankumar K, Shrestha R. Flavonoids: structure–function and mechanisms of action and opportunities for drug development. *Toxicol Res*. 2021;37(2):147-162. doi:10.1007/s43188-020-00080-z.
17. Chen X, Fei HX, Zhou ZG, Huang SM. Research progress on pharmacological effects of dihydroquercetin. *Res Prog Pharmacol Eff Dihydroquercetin*. 2017;45:90-92. doi:10.19664/j.cnki.1002-2392.2017.01.026.
18. Liu Y, Shi X, Tian Y, Zhai S, Liu Y, Xiong Z, Chu S. An insight into novel therapeutic potentials of taxifolin. *Front Pharmacol*. 2023 May 12;14:1173855. doi:10.3389/fphar.2023.1173855.
19. Singh S, Singh PK, Sachan K, Kumar M, Bhardwaj P. Automation of drug discovery through cutting-edge in-silico research in pharmaceuticals: challenges and future scope. *Curr Comput Aided Drug Des*. 2024;20(6):723-735. doi:10.2174/0115734099260187230921073932.
20. Al-Mohaya M, Mesut B, Kurt A, Çelik YS. In silico approaches which are used in pharmacy. *J Appl Pharm Sci*. 2024 Apr;14(4):239-253. doi:10.7324/JAPS.2024.154854.
21. Janakiramulu P, Mamidala E. Molecular docking and dynamic simulation analysis of flavonoid derivatives as COX-2 inhibitors. *In Silico Pharmacol*. 2025 Apr 16;13(2):59. doi:10.1007/s40203-025-00349-x.
22. Derardja I, Rebai R, Toumi ME, Kebaili FF, Boudah A. Identification of new potential cyclooxygenase-2 inhibitors using structure-based virtual screening, molecular dynamics and pharmacokinetic modelling. *Biol Life Sci Forum*. 2024;35(1):6. doi:10.3390/blsf2024035006.

23. Davies NM, Smith GD, Windmeijer F, Martin RM. COX-2 selective nonsteroidal anti-inflammatory drugs and risk of gastrointestinal tract complications and myocardial infarction: an instrumental variable analysis. *Epidemiology*. 2013 May;24(3):352-362. doi:10.1097/EDE.0b013e318289e024.
24. Rodrigues P, Bangali H, Hammoud A, Mustafa YF, Al-Hetty HRAK, Alkhafaji AT, Deorari MM, Al-Tae MM, Zabibah RS, Alsalamy A. COX 2-inhibitors; a thorough and updated survey into combinational therapies in cancers. *Med Oncol*. 2024 Jan 2;41(1):41. doi:10.1007/s12032-023-02256-7.
25. Zheng X, Zhang X, Zeng F. Biological functions and health benefits of flavonoids in fruits and vegetables: a contemporary review. *Foods*. 2025;14(2):155. doi:10.3390/foods14020155.
26. Chavda VP, Patel AB, Mistry KJ, Suthar SF, Wu ZX, Chen ZS, Hou K. Nano-drug delivery systems entrapping natural bioactive compounds for cancer: recent progress and future challenges. *Front Oncol*. 2022 Mar 29;12:867655. doi:10.3389/fonc.2022.867655.
27. Kurek-Górecka A, Górecki M, Rzepecka-Stojko A, Balwierz R, Stojko J. Bee products in dermatology and skin care. *Molecules*. 2020;25(3):556. doi:10.3390/molecules25030556.
28. Dubey AK, Chandragiri SS, Geevarghese AV, Kapoor B, Gulati M, Rani P, et al. Exploring the pharmacokinetics, drug-likeness, and toxicological features of anticancer flavonoids: a Boulevard to explore their clinical translational potential. *Front Pharmacol*. 2025 Oct 3;16:1648395. doi:10.3389/fphar.2025.1648395.
29. Sonu, Kamal YT, Gautam GK, Mishra AK, Parveen BR, Kumar A, Singh M, Singh H. Synthesis, characterization, molecular docking and pharmacological evaluation of isoxazole derivatives as potent anti-inflammatory agents. *Heliyon*. 2024 Nov 15;10(22):e40300. doi:10.1016/j.heliyon.2024.e40300.
30. Taldaev A, Svtin AA, Obukhov SI, Terekhov RP, Selivanova IA. Modification of biopharmaceutical parameters of flavonoids: a review. *Front Chem*. 2025 Apr 29;13:1602967. doi:10.3389/fchem.2025.1602967.
31. Hu L, Luo Y, Yang J, Cheng C. Botanical flavonoids: efficacy, absorption, metabolism and advanced pharmaceutical technology for improving bioavailability. *Molecules*. 2025 Mar 6;30(5):1184. doi:10.3390/molecules30051184.
32. Shaker B, Ahmad S, Lee J, Jung C, Na D. In silico methods and tools for drug discovery. *Comput Biol Med*. 2021;137:104851. doi:10.1016/j.combiomed.2021.104851.

## Lista de figuras, tabelas e legendas:

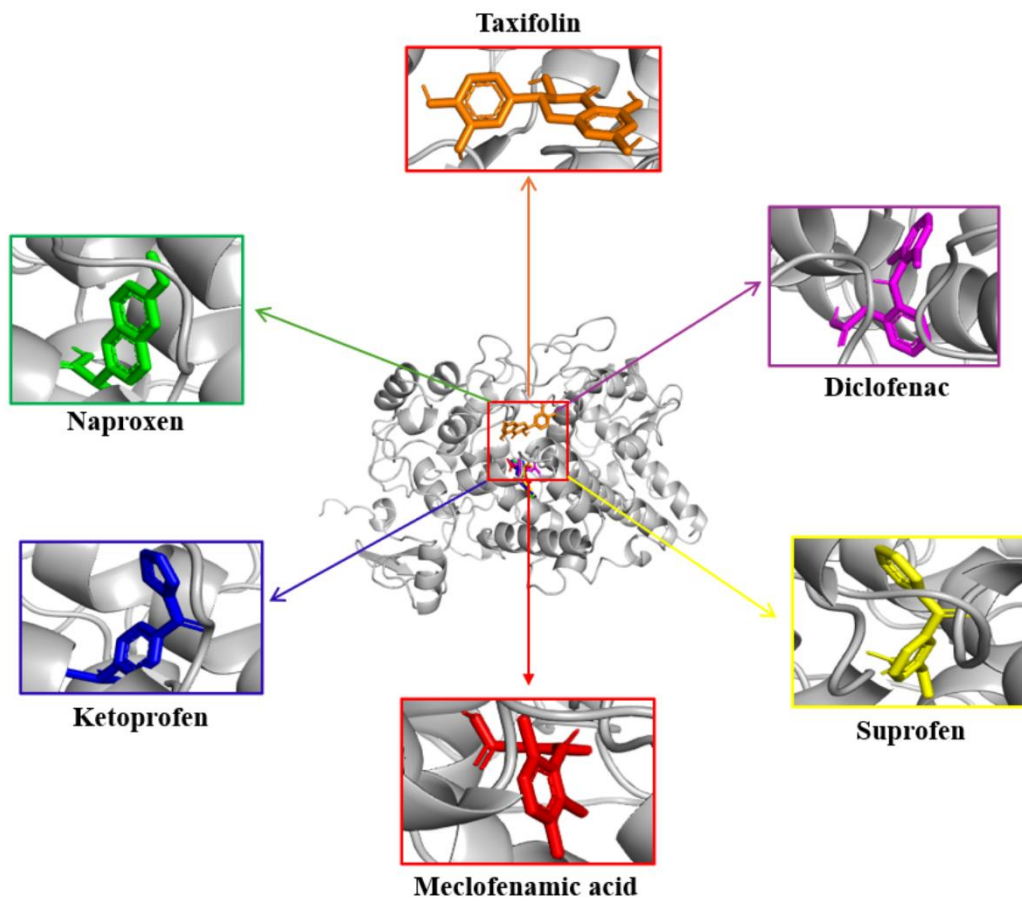


Figura 1. Representação tridimensional da ciclooxygenase-1 (COX-1; PDB ID: 6Y3C) mostrando a interação com ligantes seletivos acoplados ao sítio ativo. A taxifolina é representada em laranja e está acomodada dentro do canal catalítico da COX-1 (em cinza), ocupando a cavidade de ligação interna característica associada a anti-inflamatórios não esteroides (AINEs).

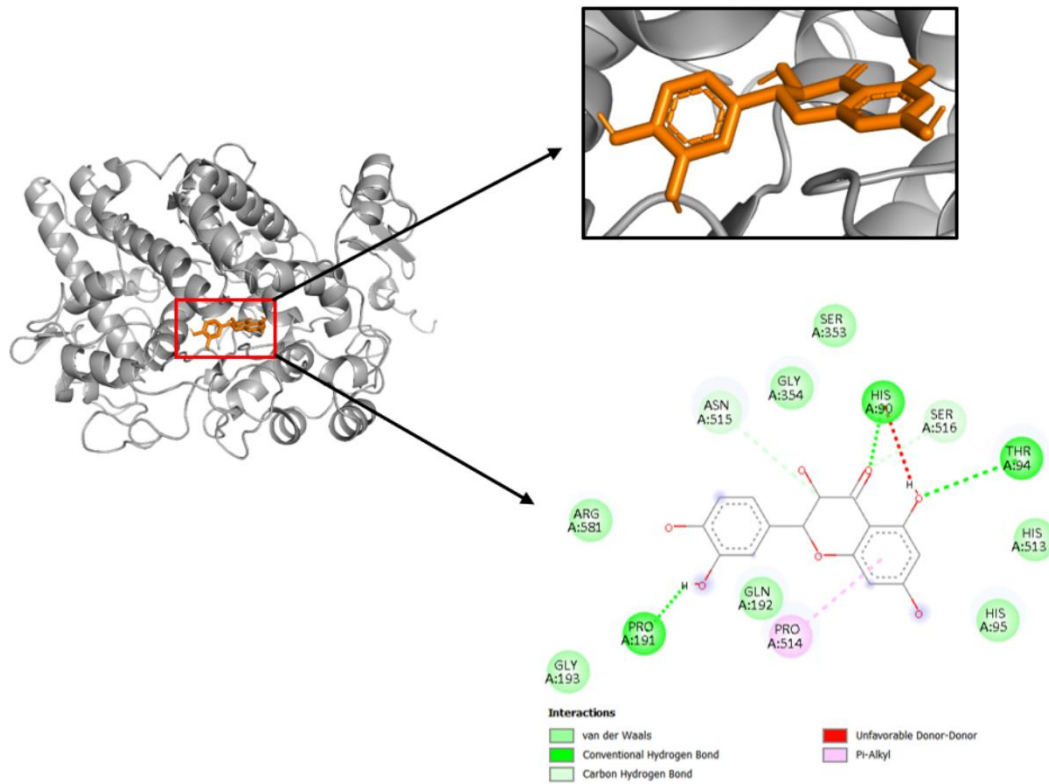


Figura 2. Mapa de interação bidimensional da taxifolina acoplada ao sítio ativo da ciclooxigenase-1 (COX-1; PDB ID: 6Y3C). O diagrama ilustra a rede de interações que estabilizam a taxifolina dentro do canal catalítico, incluindo contatos de van der Waals, ligações de hidrogênio convencionais e interações hidrofóbicas com resíduos de aminoácidos chave que revestem o sítio ativo. Esse padrão de interação corrobora a acomodação estável da taxifolina na cavidade de ligação de AINEs característica da COX-1.

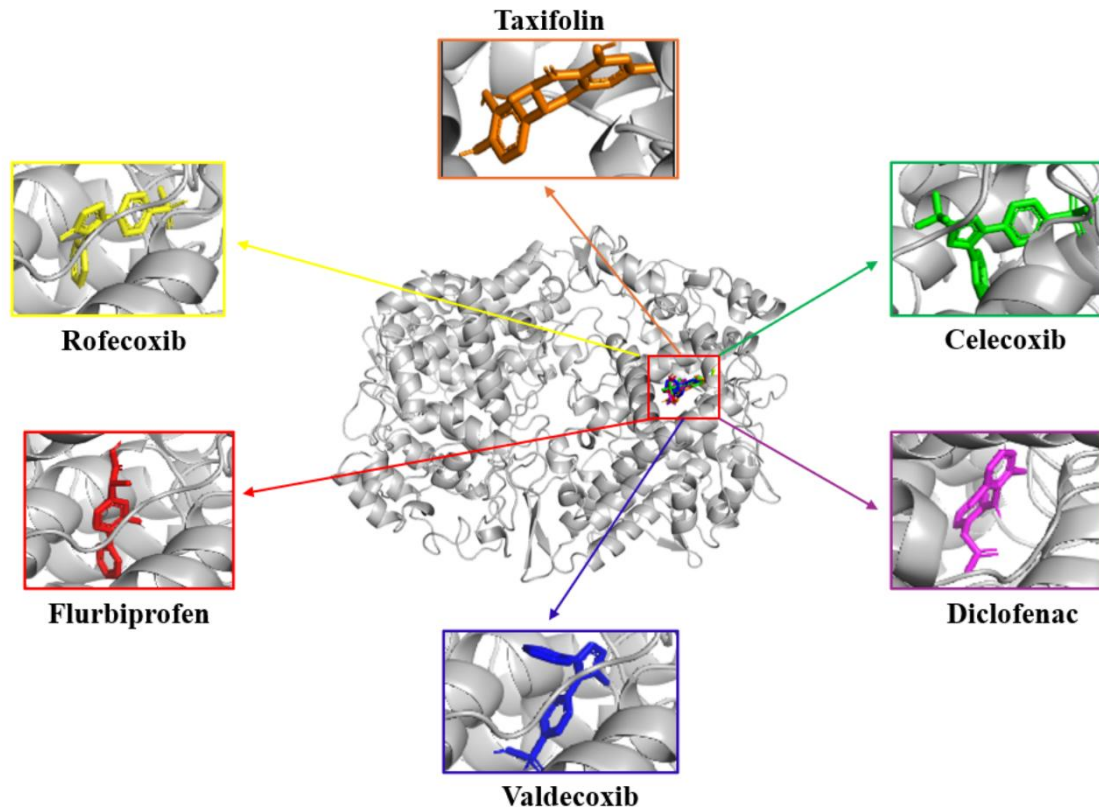


Figura 3. Visualização tridimensional da interação entre a taxifolina e a ciclooxigenase-2 (COX-2; PDB ID: 5IKQ) obtida por análise de acoplamento molecular. A taxifolina, mostrada em laranja, está acomodada no canal catalítico da COX-2, ocupando a cavidade hidrofóbica alongada característica dos inibidores da COX-2. A orientação do núcleo aromático ao longo do túnel de ligação e o posicionamento dos grupos hidroxila em direção aos resíduos polares destacam um modo de ligação compatível com a acomodação estável do ligante no sítio ativo.

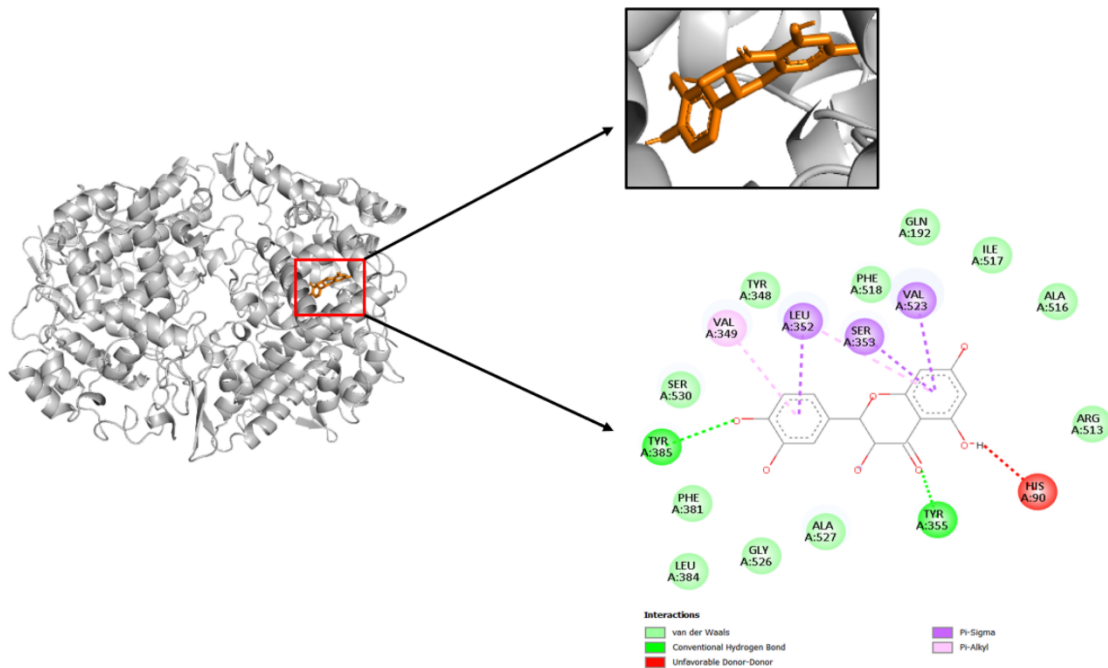


Figura 4. Mapa de interação bidimensional da taxifolina acoplada ao sítio ativo da ciclooxigenase-2 (COX-2; PDB ID: 5IKQ). O diagrama destaca a rede de interações que estabilizam a taxifolina dentro do sítio catalítico, incluindo contatos de van der Waals, ligações de hidrogênio convencionais e interações hidrofóbicas com resíduos que revestem o sítio ativo da COX-2. Interações  $\pi$ - $\sigma$  e  $\pi$ -alquila contribuem para a acomodação do anel aromático dentro do canal hidrofóbico, corroborando um modo de ligação compatível com o descrito para inibidores clássicos da COX-2.

Tabela 1. Interações e energia de ligação de compostos com aminoácidos específicos da COX-1 (ID PDB: 6Y3C).

Compostos	$\Delta G$ (kcal/mol)	Dele 90	Arg 120	Gln 192	Tyr 355	Tyr 385	Dele 513	Ser 516	Phe 518	Ilha 523	Ser 530
Taxifolin	-7,5	Co.hB	Nenhu m	VW	Nenhu m	Nenhu m	VW	ChB	Nenhu m	Nenhu m	Nenhu m
Naproxeno	-7,9	Nenhu m	Co.hB	Nenhu m	VW	VW	Nenhu m	Nenhu m	Alquil	VW	VW
Ácido meclofenâmi co	-7,9	Nenhu m	VW	Nenhu m	VW	VW	Nenhu m	Nenhu m	VW	VW	Pi.dhb
Suprofeno	-7,7	Nenhu m	Pi.Gat o	Nenhu m	Co.hB	VW	Nenhu m	Nenhu m	VW	VW	Co.hB
Cetoprofeno	-7,7	Nenhu m	Co.hB	Nenhu m	Co.hB	VW	Nenhu m	Nenhu m	Alquil	Pi.Sig	Co.hB
Diclofenaco	-6,6	Nenhu m	VW	Nenhu m	VW	Uaa	Nenhu m	Nenhu m	VW	Pi-Alk	VW

As interações incluem forças de van der Waals (Vw), ligações carbono-hidrogênio (ChB), interações alquila (Alkyl), ligações de hidrogênio convencionais (Co.hB), interações pi-alquila (Pi-Alk), interações pi-sigma (Pi.Sig), interações aceitador-aceitador desfavoráveis (Uaa), interações pi-cátion (Pi.Cat), ligações de hidrogênio pi-doador (Pi.dhb) ou nenhuma interação (None).

Tabela 2. Interações e energia de ligação de compostos com aminoácidos específicos da COX-2 (ID PDB: 5IKQ).

<b>Compostos</b>	<b><math>\Delta G</math> (kcal/mol)</b>	<b>Dele 90</b>	<b>Arg 120</b>	<b>Gln 192</b>	<b>Tyr 355</b>	<b>Tyr 385</b>	<b>Arg 513</b>	<b>Ala 516</b>	<b>Phe 518</b>	<b>Val 523</b>	<b>Ser 530</b>
Taxifolin	-8,2	Udd	Nenhum	VW	Co.hB	Co.hB	VW	VW	VW	Pi.Sig	VW
Diclofenaco	-8,3	Nenhum	Nenhum	Nenhum	VW	Udd	Nenhum	Nenhum	VW	Pi- Alk	VW
Valdecoxib	-9,1	VW	VW	Nenhum	Pi.Sig	Co.hB	Nenhum	Nenhum	Alquil	Pi.Sig	Co.hB
Flurbiprofeno	-9,1	Nenhum	Co.hB	Nenhum	Udd	VW	Nenhum	Nenhum	VW	Pi- Alk	VW
Rofecoxib	-9,3	ChB	Nenhum	VW	VW	Nenhum	VW	VW	Co.hB	Pi.Sig	VW
Celecoxib	-10,5	ChB	ChB	Co.hB	Co.hB	Alquil	Nenhum	VW	Co.hB	Pi.Sig	Nenhum

As interações incluem forças de van der Waals (Vw), ligações carbono-hidrogênio (ChB), interações alquila (Alkyl), ligações de hidrogênio convencionais (Co.hB), interações pi-alquila (Pi-Alk), interações pi-sigma (Pi.Sig), interações aceitador-aceitador desfavoráveis (Uaa), interações pi-cátion (Pi.Cat), ligações de hidrogênio pi-doador (Pi.dhb) ou nenhuma interação (None).

Tabela 3. Parâmetros físico-químicos e Regra dos Cinco de Lipinski para os compostos avaliados.

Molécula	HBA	Feliz aniversário!	LogP	MW	PSA	Regra dos 5
Taxifolin	7	5	1.18	304,25	127,45	0
Diclofenaco	2	2	4,36	296,15	120,33	0
Suprofen	3	1	3.16	260,31	108,70	0
Cetoprofeno	2	1	3.10	254,28	111.06	0
Naproxeno	2	1	3.03	230,26	99,64	0
Valdecoxib	4	1	2,96	314,36	127,97	0
Flurbiprofeno	1	1	3,68	244,26	104,70	0
Rofecoxib	4	0	2,55	314,36	128,51	0
Celecoxib	4	1	3,51	381,37	147,48	0
Ácido meclofenâmico	2	2	4,74	296,15	120,33	0

HBA: aceptores de ligação de hidrogênio; HBD: doadores de ligação de hidrogênio; LogP: lipofilicidade; MW (g/mol): peso molecular; PSA (Å<sup>2</sup>): área de superfície polar; Regra dos 5: regra dos cinco de Lipinski.

Tabela 4. Parâmetros farmacocinéticos previstos para compostos com base no modelo pkCSM.

<b>Moléculas</b>	<b>% Absorvido</b>	<b>VDss</b>	<b>Fu</b>	<b>CYP</b>	<b>HEPT</b>	<b>TC</b>
Taxifolin	69,34	-0,99	0,33	Não	Não	-0,03
Diclofenaco	91,92	-1,60	0	Não	Não	0,29
Suprofen	100	-1,87	0,11	Não	Não	0,18
Cetoprofeno	100	-1,94	0,07	Não	Não	0,28
Naproxeno	97,94	-1,61	0,13	Não	Não	0,19
Valdecoxib	94,57	-0,40	0,16	Não	Sim	0,84
Flurbiprofeno	99,60	-2,05	0,01	Não	Não	0,15
Rofecoxib	98,41	-0,61	0	Não	Sim	0,88
Celecoxib	92,99	-0,27	0,13	Sim	Sim	0,43
Ácido meclofenâmico	93,84	-2,13	0	Não	Não	0,33

Absorvido: percentagem absorvida; VDss: volume de distribuição no estado de equilíbrio ( $\log L \cdot \text{kg}^{-1}$ ); Fu: fração não ligada; CYP: inibição do substrato do citocromo P450; Hept: hepatotoxicidade; Tc: depuração renal ( $\log \text{mg/kg/dia}$ ).

Tabela 5. Perfis de toxicidade previstos dos compostos avaliados com potencial anti-inflamatório.

<b>Molécula</b>	<b>DL</b>	<b>DS</b>	<b>Mutante</b>	<b>Tum.</b>	<b>Deputado</b>	<b>Irritante</b>	<b>LD50</b>	<b>Loael</b>	<b>MRTD</b>
Taxifolin	0,44	0,74	Nenhum	Nenhum	Nenhum	Nenhum	2,00	2,07	0,88
Diclofenaco	-0,71	0,26	Nenhum	Nenhum	Alto	Nenhum	2,40	1,56	0,98
Suprofen	3,03	0,50	Nenhum	Nenhum	Baixo	Baixo	2,29	1,56	0,68
Cetoprofeno	0,41	0,64	Nenhum	Nenhum	Nenhum	Nenhum	2,17	1,97	0,71
Naproxeno	0,36	0,67	Nenhum	Nenhum	Nenhum	Nenhum	2,40	1,77	0,98
Valdecoxib	2,01	0,65	Nenhum	Nenhum	Nenhum	Nenhum	1,78	1,83	0,62
Flurbiprofeno	-1,12	0,46	Nenhum	Nenhum	Nenhum	Nenhum	2,13	1,69	0,84
Rofecoxib	4,31	0,52	Nenhum	Nenhum	Alto	Nenhum	2,38	1,65	0,39
Celecoxib	-8,10	0,36	Nenhum	Nenhum	Nenhum	Nenhum	1,97	1,12	0,17
Ácido meclofenâmico	-0,77	0,23	Nenhum	Nenhum	Alto	Nenhum	2,48	1,32	0,91

DL: semelhança com fármacos; DS: pontuação do fármaco; Mut: mutagenicidade; Tum: tumorigenicidade; Rep: efeitos no sistema reprodutivo; Irrit: efeitos irritantes; LD<sub>50</sub>: toxicidade oral aguda em ratos (mol·kg<sup>-1</sup>); LOAEL: toxicidade oral crônica em ratos (log mg·kg<sup>-1</sup>·pc·dia<sup>-1</sup>), nível mais baixo de efeito adverso observado; MRTD: dose máxima tolerada recomendada (log mg/kg/dia).

Tabelas suplementares. Lista de ligantes avaliados por acoplamento molecular, incluindo energias de ligação previstas ( $\text{kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ ) e SMILES canônicos usados para análise de interação com ciclooxigenase-1 (COX-1, PDB ID: 6Y3C) e ciclooxigenase-2 (COX-2, PDB ID: 5IKQ).

## COX-1

Ligantes	$\Delta G$ (kcal/mol)	SORRISOS
Taxifolin	-7,5	<chem>C1=CC(=C(C=C1[C@@H]2[C@H](C(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O)O)O)O</chem>
Ácido meclofenâmico	-7,9	<chem>CC1=C(C(=C(C=C1)Cl)NC2=CC=CC=C2C(=O)O)Cl</chem>
Diclofenaco	-6,6	<chem>C1=CC=C(C(=C1)CC(=O)O)NC2=C(C=CC=C2Cl)Cl</chem>
Bromfenaco	-7,3	<chem>C1=CC(=C(C(=C1)C(=O)C2=CC=C(C=C2)Br)N)CC(=O)O</chem>
Flurbiprofeno	-7,0	<chem>CC(C1=CC(=C(C=C1)C2=CC=CC=C2)F)C(=O)O</chem>
Fenoprofeno	-7,4	<chem>CC(C1=CC(=CC=C1)OC2=CC=CC=C2)C(=O)O</chem>
Indometacina	-6,6	<chem>CC1=C(C2=C(N1C(=O)C3=CC=C(C=C3)Cl)C=CC(=C2)OC)CC(=O)O</chem>
Cetoprofeno	-7,7	<chem>CC(C1=CC(=CC=C1)C(=O)C2=CC=CC=C2)C(=O)O</chem>
Suprofeno	-7,7	<chem>CC(C1=CC=C(C=C1)C(=O)C2=CC=CS2)C(=O)O</chem>
Sulindac	-7,1	<chem>CC\C1=C(C2=C(/C1=C\C3=CC=C(C=C3)S(=O)C)C=CC(=C2)F)CC(=O)O</chem>
Piroxicam	-6,8	<chem>CN1C(=C(C2=CC=CC=C2S1(=O)=O)O)C(=O)NC3=CC=CC=N3</chem>
Oxaprozina	-6,9	<chem>C1=CC=C(C=C1)C2=C(OC(=N2)CCC(=O)O)C3=CC=CC=C3</chem>
Ibuprofeno	-6,9	<chem>CC(C)CC1=CC=C(C=C1)C(C)C(=O)O</chem>
Fenilbutazona	-5,6	<chem>CCCCC1C(=O)N(N(C1=O)C2=CC=CC=C2)C3=CC=CC=C3</chem>
Naproxeno	-7,9	<chem>C[C@@H](C1=CC2=C(C=C1)C=C(C=C2)OC)C(=O)O</chem>
Nimesulida	-6,0	<chem>CS(=O)(=O)NC1=C(C=C(C=C1)[N+](=O)[O-])OC2=CC=CC=C2</chem>
Ácido mefenâmico	-7,2	<chem>CC1=C(C(=CC=C1)NC2=CC=CC=C2C(=O)O)C</chem>
Cetorolaco	-7,4	<chem>C1CN2C(=CC=C2C(=O)C3=CC=CC=C3)C1C(=O)O</chem>
Meloxicam	-6,9	<chem>CC1=CN=C(S1)NC(=O)C2=C(C3=CC=CC=C3S(=O)(=O)N2C)O</chem>
Celecoxib	-6,5	<chem>CC1=CC=C(C=C1)C2=CC(=NN2C3=CC=C(C=C3)S(=O)(=O)N)C(F)(F)F</chem>
Paracetamol	-5,5	<chem>CC(=O)NC1=CC=C(C=C1)O</chem>
Aspirina	-6,1	<chem>CC(=O)OC1=CC=CC=C1C(=O)O</chem>

## COX-2

Ligantes	$\Delta G$ (kcal/mol)	SORRISOS
Taxifolin	-8,2	<chem>C1=CC(=C(C=C1[C@@H]2[C@H](C(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O)O)O)O</chem>
Aspirina	-6,7	<chem>CC(=O)OC1=CC=CC=C1C(=O)O</chem>
Benzquinamida	-6,1	<chem>CCN(CC)C(=O)C1CN2CCC3=CC(=C(C=C3C2CC1OC(=O)C)OC)OC</chem>
Carprofeno	-8,4	<chem>CC(C1=CC2=C(C=C1)C3=C(N2)C=CC(=C3)Cl)C(=O)O</chem>
Celecoxib	-10,5	<chem>CC1=CC=C(C=C1)C2=CC(=NN2C3=CC=C(C=C3)S(=O)(=O)N)C(F)(F)F</chem>
Diclofenaco	-8,3	<chem>C1=CC=C(C=C1)CC(=O)O)NC2=C(C=CC=C2Cl)Cl</chem>
Eslurbiprofeno	-8,6	<chem>C[C@@H](C1=CC(=C(C=C1)C2=CC=CC=C2)F)C(=O)O</chem>
Etoricoxib	-8,9	<chem>CC1=NC=C(C=C1)C2=C(C=C(C=N2)Cl)C3=CC=C(C=C3)S(=O)(=O)C</chem>
Flurbiprofeno	-9,1	<chem>CC(C1=CC(=C(C=C1)C2=CC=CC=C2)F)C(=O)O</chem>
Ibuprofeno	-8,7	<chem>CC(C)CC1=CC=C(C=C1)C(C)C(=O)O</chem>
Cetoprofeno	-8,7	<chem>CC(C1=CC(=CC=C1)C(=O)C2=CC=CC=C2)C(=O)O</chem>
Lumiracoxib	-8,6	<chem>CC1=CC(=C(C=C1)NC2=C(C=CC=C2Cl)F)CC(=O)O</chem>
Ácido meclofenâmico	-8,9	<chem>CC1=C(C=C(C=C1)Cl)NC2=CC=CC=C2C(=O)O)Cl</chem>
Ácido mefenâmico	-8,6	<chem>CC1=C(C(=CC=C1)NC2=CC=CC=C2C(=O)O)C</chem>
Meloxicam	-7,0	<chem>CC1=CN=C(S1)NC(=O)C2=C(C3=CC=CC=C3S(=O)(=O)N2C)O</chem>
Naproxeno	-7,9	<chem>C[C@@H](C1=CC2=C(C=C1)C=C(C=C2)OC)C(=O)O</chem>
Nimesulida	-7,9	<chem>CS(=O)(=O)NC1=C(C=C(C=C1)[N+](=O)[O-])OC2=CC=CC=C2</chem>