

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE GENÉTICA E BIOQUÍMICA CURSO DE
BIOTECNOLOGIA

Triagem virtual de compostos provenientes de plantas
da biodiversidade brasileira, com potencial atividade
inibitória das enzimas alfa-amilase, alfa-glicosidase
humanas

Heitor Cappato Guerra Silva

Monografia apresentada à Coordenação
do Curso de Biotecnologia, da
Universidade Federal de Uberlândia,
para obtenção do grau de Bacharel em
Biotecnologia.

Uberlândia - MG
Dezembro - 2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE GENÉTICA E BIOQUÍMICA CURSO DE
BIOTECNOLOGIA

Triagem virtual de compostos provenientes de plantas
da biodiversidade brasileira, com potencial atividade
inibitória das enzimas alfa-amilase, alfa-glicosidase
humanas

Heitor Cappato Guerra Silva

Foued Salmen Espindola

Allisson Benatti Justino

Monografia apresentada à Coordenação
do Curso de Biotecnologia, da
Universidade Federal de Uberlândia,
para obtenção do grau de Bacharel em
Biotecnologia.

Uberlândia - MG
Dezembro - 2017

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por estar aqui, concretizando esse trabalho depois de muitos desafios.

Agradeço a minha família por estar presente, sempre apoiando e dando forças, minha mãe Silvana, pai Walter e irmãos Vinicius e Graziele.

Meus amigos que moraram comigo em Uberlândia e proporcionaram um dos melhores ambientes para seguir em frente. Marcel, Bruno, Marlon, Vitor, Matheus, Junior, Davi, Fred, e Flávio.

Foued, meu orientador, em que me proporcionou imenso crescimento e desde a oportunidade de ser seu orientado a 3 anos atrás, muito obrigado.

Ao LABIBI, pessoas que se tornaram únicas pela convivência e companheirismo sem igual, Allisson, Mari, Douglas, Adriele, Rodrigo, Marina, Dani, Renata, e todos que passaram e deixaram algo.

A Empresa Júnior do Triângulo Mineiro, Tribiotec, foram anos de aprendizado, identidade, e amor por essa entidade.

A Universidade Federal de Uberlândia, pela minha graduação, apoio estrutural e oportunidades concebidas durante a graduação.

RESUMO

Compostos naturais são associados à redução da hiperglicemia pós-prandial através do bloqueio de enzimas envolvidas na digestão de carboidratos, como alfa-amilase e alfa-glicosidase. Estes podem representar alvos promissores no tratamento da diabetes e suas complicações. Assim, o objetivo deste trabalho foi buscar compostos naturais derivados da biodiversidade brasileira com potencial farmacológico para inibir estas hidrolases por meio de triagem virtual, *docking* e farmacocinética de compostos. A biblioteca de ligantes utilizada nesta pesquisa é originada do banco de dados NuBBEdB. Para realizar a triagem virtual, a biblioteca de ligantes foi preparada e foi gerado conformeros dos compostos. Após a validação dos modelos gerados, a biblioteca de conformeros foi submetida ao modelo de forma e pontos farmacofóricos e os 200 principais ligantes de cada um foram selecionados. Os ligantes de melhor pontuação em comum para as duas enzimas foram utilizados para realizar um *docking* molecular contra alfa-amilase e alfa-glicosidase, gerando potenciais inibidores que então foram indicados para seus comportamentos de drogas com o servidor pkCSM. Gerando assim 5 principais compostos como promissores para o complemento do tratamento da diabetes.

Palavras-chave: triagem virtual, biodiversidade brasileira e diabetes

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO-----	1
2.OBJETIVO GERAL-----	4
2.1. Objetivos Específicos-----	4
3. METODOLOGIA-----	4
3.1. Geração de banco de dados de conformeros de ligantes -----	4
3.2. Geração do modelo baseado em forma-----	5
3.3. Triagem virtual em banco de dados de compostos e validação-----	6
3.4. Análise de docking molecular-----	6
3.5. Análise de propriedade <i>drug-like</i> -----	7
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO-----	8
4.1. Triagem virtual por modelo baseado em forma -----	8
4.2. <i>Docking</i> Molecular -----	11
4.3 Análise de propriedade <i>drug-like</i> -----	19
5. CONCLUSÃO-----	24
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS-----	25

1. INTRODUÇÃO

Com cerca de 45000 espécies, correspondente a 20-22% do total existente no planeta, o Brasil é o país com maior biodiversidade no mundo (DUTRA et al., 2016). São seis biomas presentes no Brasil, sendo eles Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata atlântica, Pampa e Cerrado, que estão distribuídos em 8.516.0000 Km², representando um grande conjunto de conhecimento acerca de interações ecológicas, usos e aplicações de seus recursos naturais (ALEIXO et al., 2010).

Amplios são os usos dessa biodiversidade, com destaque o uso medicinal, que vem evoluindo ao longo do tempo, devido ao potencial terapêutico aplicado tanto em doenças tóxicas quanto em doenças crônicas (MARQUES et al., 2016). Com base nesse conhecimento obtido das comunidades, é possível aprofundar estudos referentes ao tratamento de doenças e distúrbios que acometem a sociedade na atualidade, utilizando de um produto natural comumente consumido (BARBOSA et al., 2016).

Estas atividades farmacológicas e/ou terapêuticas das plantas são atribuídas principalmente à presença de compostos bioativos, chamados de metabólitos secundários, que não estão relacionados ao desenvolvimento e crescimento da planta diretamente, mas à sua adaptação e defesa (BENEVIDES BAHIENSE et al., 2017). Estes compostos podem ser divididos em três grandes grupos: compostos fenólicos, terpenos e compostos nitrogenados, tais como os alcaloides (SOUSA, 2015).

Os alcaloides são compostos químicos de ocorrência natural que contém átomos de nitrogênio básicos. A classificação dos alcaloides é complexa, abrangendo um conjunto de regras, tais como a estrutura e outras características químicas da molécula, sua origem biológica, bem como a origem biogenética, quando conhecida (SOUSA, 2015). Os grupos podem ser: piridina, pirrolidina, tropano, indolizidina, quinolina, isoquinolina, fenantreno, feniletila, e grupos indol como purina e terpenoide. Quando utilizados como drogas, tem como alvo principalmente o sistema nervoso central (PAYNE et al., 2017).

Os compostos fenólicos são aqueles que contêm pelo menos um anel em que o hidrogênio é substituído por uma hidroxila, podendo ser subdivididos em diversos grupos como ácidos fenólicos, estilbenos, lignoides, derivados como ácido elágico e os flavonoides. (RASOULI et al., 2017). Este ainda mais diverso se divide em classes como chalconas, flavan-3-ols, flavanonas, flavonas, flavonóis e antocianinas (SOUSA,

2015). muito presente em frutos, e com atividades já descritas como antioxidantes, anti-inflamatórias (RAFFA et al., 2017; WANG et al., 2017).

Outra classe de grande relevância são os terpenos, que são classificados de acordo com o número de unidades de isopreno que contêm na sua estrutura, sendo isopreno, monoterpeno, sesquiterpeno, diterpeno, triterpeno, tetraterpeno e politerpeno à medida que se adiciona um isopreno na sua estrutura (SOUSA, 2015). Possuem atividades relacionadas como anti-inflamatórias, neuroprotetoras, entre outras (CHO et al., 2017).

A aplicação destes metabólitos contra o diabetes mellitus é notória (TANG et al., 2017; TANVEER et al., 2017; XU et al., 2017). O diabetes uma doença metabólica multifatorial, em que a WHO (Organização Mundial da Saúde) estima que em 2030 será a 7ª causa de mais mortes mundiais (ALWAN; GALEA; STUCKLER, 2011). Podendo ser do tipo I em que a causa é genética na qual ocorre uma reação autoimune provocando a destruição das células B-pancreáticas, ou do tipo II em que ocorre uma resistência à insulina e hiperglicemia crônica que pode desencadear complicações multifatoriais, tais como formação de produtos finais de glicação avançada, estresse oxidativo, angiopatias, nefropatias, retinopatias, doenças inflamatórias, dentre outras (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2016). O alvo para o tratamento pode ser diverso, mas tem sido descrito que esses produtos naturais podem aumentar a secreção de insulina, reduzir a apoptose e promover a proliferação de células- β pancreáticas, além de reduzir a resistência à insulina, inflamação e estresse oxidativo no músculo e tecido adiposo (BABU; LIU; GILBERT, 2013). Além disso, tais compostos também podem agir como inibidores de enzimas chave do metabolismo de carboidratos, como a alfa-amilase e alfa-glicosidase, interferindo na absorção e regulação da glicose e, consequentemente, na hiperglicemia (TRINH; STAERK; JÄGER, 2016).

A enzima alfa-amilase (E.C. 3.2.1.1) em humanos é expressa como duas isoformas, secretadas das glândulas salivares e do pâncreas. Essas enzimas desempenham um papel na digestão de polissacarídeos como o amido, a principal fonte de glicose na dieta humana (QIN et al., 2011). A alfa-amilase salivar (HSA) inicia a hidrólise de ligações α - (1,4) glicosídicas do amido em pequenos oligossacarídeos. Mas a digestão de carboidratos ocorre no intestino sob controle da alfa-amilase pancreática (HPA). Assim, a hidrólise de amido polimérico por HSA e HPA produz maltose, maltotriose e outros oligômeros, que são então

degradados em glicose pela alfa-glicosidase (LORDAN et al., 2013).

A alfa-glicosidase (EC 3.2.1.20), situada na mucosa das células intestinais, hidrolisa oligossacarídeos em glicose, a partir da hidrólise da ligação glicosídica α -(1,4) sendo hidrolisados a monômeros como maltase, isomaltase, lactase (PENG et al., 2016). Logo, as duas hidrolases glicosídicas cumprem um papel chave no metabolismo de carboidratos e, a inibição dessas enzimas pode ser uma abordagem efetiva para a diminuição da hiperglicemia pós-prandial e suas complicações pela diminuição da glicose absorvida (GAMBOA-GÓMEZ et al., 2017). Ao observar a inibição dessas enzimas é muito útil e compensativo o uso de técnicas computacionais para alinhar as pesquisas, e direcionar os testes *in vitro* e *in vivo*, economizando tempo e custos. (MEO et al., 2016)

A interação proteína-inibidor pode ser analisada por métodos *in silico* baseado no ligante/inibidor ou na proteína, sendo que o ligante a ser testado é então comparado com outros inibidores já conhecidos, avaliando a forma do composto e até os possíveis grupos de interação com a proteína buscando aqueles mais semelhantes (HAWKINS; SKILLMAN; NICHOLLS, 2007). Baseado na proteína ou receptor pode ser citado o *docking*; o sistema de *docking* macromolecular proteína-inibidor consiste de duas etapas: um algoritmo de busca conformacional que envolve todos os graus de liberdade do ligante (translacional, rotacional e conformacional) e uma função de pontuação que ranqueia as prováveis posições espaciais para um composto ou vários provenientes de uma biblioteca de compostos (TROTT; OLSON, 2010). Essa abordagem *in silico* é importante para presumir quais metabólitos podem interagir com determinada proteína e como é essa interação. Assim, torna-se possível o ranqueamento dos compostos e a seleção daqueles com maior pontuação para testes *in vitro* (LO PIPARO et al., 2008).

Essa área de bioinformática é uma ferramenta que contribui cada vez mais em diversas áreas, como na farmacologia, como por exemplo, ao predizer aqueles compostos com maiores propriedades farmacocinéticas, propriedades de absorção, distribuição, metabolismo, eliminação e toxicidade (LEI et al., 2017). Analisando a “*druglikeness*”, propriedade de droga do composto, estudos indicam como esse se comportaria no organismo, e podendo também direcionar alterações na molécula para aumentar parâmetros de interesse. (NEMBRI et al., 2016)

Desse modo, o presente trabalho visa identificar metabólitos secundários

provenientes de plantas da biodiversidade brasileira como potenciais inibidores das enzimas responsáveis pela digestão de carboidratos, alfa-amilase e alfa-glicosidase, por meio de uma triagem *in silico* baseado em ligante, pela forma e pontos de interação dos compostos, e avaliação da inibição desses metabólitos *in silico* através de interações com as enzimas por *docking*, e de propriedades *drug-like*. Assim, o presente estudo propicia o direcionamento e a identificação de metabólitos secundários que podem ser utilizados em ensaios *in vitro* e *in vivo* para o desenvolvimento de novos fármacos que atuem no controle e tratamento de complicações relacionadas ao diabetes mellitus.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivos gerais

Fazer uma triagem virtual de compostos derivados de plantas da biodiversidade brasileira capazes de inibir as enzimas alfa-amilase e alfa-glicosidase com propriedade *drug-like*.

2.2 Objetivos específicos

- Construir uma biblioteca *in silico* com os compostos de interesse.
- Gerar modelos por meio de forma e pontos farmacofóricos para cada enzima.
- Realizar uma triagem virtual da biblioteca de compostos contra os modelos gerados.
- Realizar ensaio *in silico* de *docking* com os compostos selecionados da primeira triagem.
- Analisar a farmacocinética *in silico* dos melhores compostos no ensaio de *docking*.

3. METODOLOGIA

3.1 Geração de banco de dados de confôrmeros de ligantes

A biblioteca de compostos que foi usada na triagem virtual é originária do banco de dados NuBBEdb (PILON et al., 2017), banco de dados de compostos derivados da biodiversidade brasileira, como animais, microrganismos mas que

foram selecionados somente aqueles derivados de plantas. Esta biblioteca, totalizando 1744 compostos, foi submetida ao programa FILTER do OMEGA 2.5.1.4, OpenEye Scientific Software, Santa Fe, NM (HAWKINS et al., 2010). O FILTER é um programa de rápida filtragem e seleção de compostos que usa uma combinação de cálculos de propriedade físicas e o conhecimento de grupos funcionais. Ele foi usado antes da análise experimental para remover compostos indesejáveis, como compostos com funções tóxicas, com baixa biodisponibilidade oral, com alta probabilidade de formar ligações covalentes com o alvo proteico e de compostos com probabilidade de interferência no ensaio experimental.

Os 1018 compostos da biblioteca filtrada por meio do FILTER foram submetidos ao programa QUACPAC 1.6.3.1, OpenEye Scientific Software, Santa Fe, NM (<http://www.eyesopen.com>) com o intuito de gerar compostos com cargas precisas ou pelo menos representadas de forma consistente. Para tanto, o QUACPAC enumera o pKa e os tautômeros de cada composto, a fim de obter os estados de protonação no estado em Ph 7 e os possíveis tautômeros para cada molécula.

Após a enumeração de pKa e tautômeros a biblioteca de compostos foi submetida a geração de confôrmeros por meio do programa OMEGA (HAWKINS et al., 2010). O OMEGA gera bancos de dados de multi-confôrmeros bioativos de compostos com alta velocidade e confiabilidade. A geração de confôrmeros é um passo essencial para a triagem virtual utilizando modelos baseado em forma, pois estes dependem de conformações bioativas para alcançar resultados satisfatórios.

3.2 Geração do modelo baseado em forma

Visando a triagem virtual da biblioteca de ligantes, dois modelos foram gerados baseado na forma e interações do ligante acarbose em complexo com a alfa-amilase salivar humana (PDB id: 3BAJ) e a alfa-glicosidase humana (PDB id: 5NN8). O programa ROCS 3.2.0.4, OpenEye Scientific Software, Santa Fe, NM (HAWKINS; SKILLMAN; NICHOLLS, 2007). ROCs é um programa baseado no método de comparação de forma, com base na ideia de que as moléculas têm forma semelhante se os seus volumes se sobrepõe adequadamente. Embora ROCS seja primariamente um método baseado em forma, o usuário pode definir para regiões específicas do modelo, características químicas descritas como: doadoras de hidrogênio, aceptoras de hidrogênio, aníons, cátions, hidrofóbicas e regiões de

anéis aromáticos.

3.3 Triagem virtual em banco de dados de compostos e validação

O modelo baseado em forma previamente gerado por meio do ligante acarbose serviu de base para triagem nas bibliotecas de ligantes. A triagem virtual foi realizada pelo programa ROCs e consiste em utilizar baseado em forma e pontos farmacofóricos, para a sobreposição de moléculas advindas do banco de dados de confôrmeros. O ROCS é uma técnica rápida e realiza a triagem virtual a uma taxa de 600-800 confôrmeros por segundo.

Para facilitar a compreensão exata, interpretação e comparação de triagem virtual o ROCS contém métodos de validação estatística dos resultados alcançados na triagem. Foram utilizados nesta validação a curva ROC (característica de operação do receptor) e AUC (área abaixo da curva). A curva ROC representa a comparação de compostos ativos versus decoys (ligantes não relacionados com o alvo proteico e potencialmente inativos) e a AUC, extraída do gráfico da curva ROC, é simplesmente a probabilidade de que um composto ativo escolhido aleatoriamente tenha uma pontuação maior do que um composto inativo escolhido aleatoriamente. Para a construção da curva ROCS e obtenção do valor de AUC foram utilizados ligantes biologicamente ativos obtidos a partir do banco PDB e ChEMBL, contra as proteínas alfa-amilase (ChEMBL1233515, 1XCW, 1XCX, 1XD0, 1XD1, 2QV4 e 2IJ9) e alfa-glicosidase (ChEMBL465360, 3L4T, 3L4U, 3L4V, 3L4X, 3L4Y e 3L4Z). Os decoys foram gerados na plataforma online DUD-E (MYSINGER et al., 2012) que utiliza ligantes ativos para gerar um conjunto de 209 e 290 ligantes decoys respectivamente. Desta forma, foi possível avaliar a qualidade o modelo farmacofórico gerado a partir da acarbose, por meio da sobreposição e comparação dos resultados entre ligantes ativos e decoys.

3.4 Análise de *docking* molecular

As bibliotecas de compostos geradas a partir da busca pelos modelos baseados em forma foram submetidas a técnica de ancoragem molecular ou *docking*. O método de *docking* molecular requer técnicas computacionais com potencial para investigar um grande número de soluções possíveis, com o intuito de encontrar a solução ótima, ou seja, aquela que melhor atende as necessidades do sistema. Dentre os algoritmos utilizados para a construção de modelos utilizando

docking destacam-se os algoritmos genéticos. Algoritmos genéticos são algoritmos evolucionários pertencentes a uma classe de métodos estocásticos de otimização global, e são inspirados no processo biológico de evolução das espécies e na teoria da sobrevivência do mais apto de Darwin.

O programa AutoDock vina (TROT; OLSON, 2010), utilizado para esse trabalho possui um algoritmo genético adicional chamado Lamarckiano, que é um híbrido com busca local. A cada geração uma porção da população é escolhida ao acaso para a busca local, assim o indivíduo escolhido substitui o anterior.

Então as duas proteínas alfa-amilase (PDB id: 3BAJ) e alfa-glicosidase (PDB id: 5NN8) foram previamente preparadas no Discovery Studio 4.5 em que foram removidos os ligantes, e moléculas de água, depois com o autodocktools (TROT; OLSON, 2010) foi adicionado hidrogênios polares e geradas as proteínas em PDBQT. Os compostos foram preparados pelo software PyRx (DALLAKYAN; OLSON, 2014), em que foram otimizadas suas energias e geradas na forma de PDBQT. O *docking* utilizando o autodock VINA foi estabelecido com uma grid Box de dimensões 34x31x35 para a alfa-amilase e para a alfa-glicosidase 34x34x35, e ambos com exaustividade igual a 8. Após o *docking* foram analisadas as interações dos compostos com os resíduos dos sítios ativos de ambas enzimas, a partir do Server PoseView (FRICKER; GASTREICH; RAREY, 2004; STIERAND; MAAS; RAREY, 2006).

3.5 Análise de Propriedades *drug-like in silico*

Propriedades biológicas dos compostos selecionados após a ancoragem foram avaliadas com auxílio do programa pkCSM (PIRES; BLUNDELL; ASCHER, 2015). Uma plataforma integrada para prever resultados farmacocinéticos e toxicológicos usando assinaturas baseadas em grafos, uma representação matemática de entidades químicas, das quais diferentes descritores abrangendo tanto a estrutura da molécula como a química podem ser extraídos. Juntamente com dados experimentais sobre propriedades particulares de interesse, esses descritores podem então ser usados como evidências para treinar modelos preditivos altamente precisos através de métodos de aprendizado de máquina. Essas assinaturas foram usadas para avaliar treze compostos, de acordo com para 14 modelos de regressão quantitativa e 16 modelos de classificação preditiva para prever uma ampla disposição das propriedades ADMET.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Triagem virtual por modelo baseado em forma

Após a geração da biblioteca com um total de mais de 100 mil confôrmeros, os modelos gerados conforme a figura 1, para a alfa-amilase (A) e para a alfa-glicosidase (C), foram validados com a rocs curve obtendo um AUC de 0.825 para amilase (B) e 0.832 para glicosidase (D), considerados valores bons de validação. Sendo para a amilase um modelo com 5 grupos aceptores e doadores, 1 grupo acceptor, 1 grupo doador, 1 grupo cátion doador e grupo hidrofóbico; e para então alfa-glicosidase 3 grupos aceptores e doadores, 3 grupos aceptores, 2 grupos doadores e 1 grupo cátion doador.

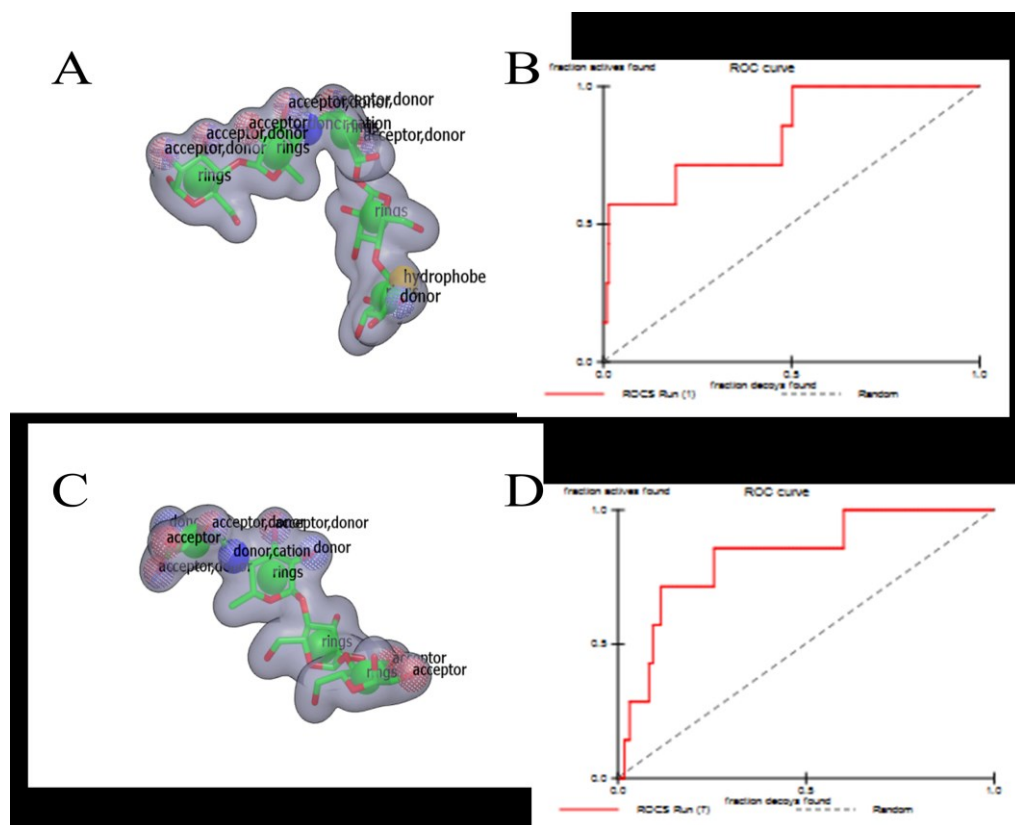


Figura 1 – Modelo baseado em forma e pontos farmacofóricos para a alfa-amilase (A) e para a alfa-glicosidase (C), com suas respectivas validações (B) e (D).

Após a geração do modelo, foi feita então a triagem virtual da biblioteca de compostos contra o modelo. Gerando assim uma pontuação TanimotoCombo para cada modelo, que se baseia tanto na similaridade de estrutura, quanto grupos funcionais. Foram ranqueados os 200 melhores resultados para cada, desses 200

melhores de cada modelo, selecionados aqueles em comum mostrados na tabela 1, totalizando 67 compostos.

Tabela 1 – Triagem virtual por modelo baseado em forma e pontos farmacofóricos para alfa-amilase e alfa-glicosidase utilizando a pontuação de TanimotoCombo.

Compostos	TanimotoCombo (Alfa-amilase)	TanimotoCombo (Alfa-glicosidase)
NuBBE_2418	0,690	0,785
NuBBE_391	0,628	0,776
NuBBE_1169	0,542	0,762
NuBBE_1208	0,646	0,761
NuBBE_558	0,547	0,747
NuBBE_127	0,572	0,739
NuBBE_412	0,555	0,735
NuBBE_579	0,597	0,727
NuBBE_2330	0,656	0,722
NuBBE_1664	0,570	0,710
NuBBE_980	0,539	0,710
NuBBE_557	0,640	0,709
NuBBE_981	0,558	0,708
NuBBE_581	0,570	0,706
NuBBE_1406	0,545	0,706
NuBBE_2446	0,544	0,704
NuBBE_1191	0,636	0,703
NuBBE_876	0,625	0,702
NuBBE_1482	0,563	0,698
NuBBE_985	0,575	0,698
NuBBE_2373	0,567	0,697
NuBBE_1184	0,571	0,696
NuBBE_1666	0,591	0,693
NuBBE_2473	0,570	0,690

NuBBE_584	0,565	0,689
NuBBE_1399	0,542	0,687
NuBBE_927	0,562	0,687
NuBBE_583	0,681	0,686
NuBBE_538	0,607	0,686
NuBBE_537	0,553	0,686
NuBBE_2370	0,606	0,686
NuBBE_1050	0,544	0,684
NuBBE_385	0,635	0,683
NuBBE_1856	0,561	0,681
NuBBE_1419	0,568	0,680
NuBBE_212	0,544	0,680
NuBBE_554	0,619	0,678
NuBBE_2162	0,611	0,676
NuBBE_2329	0,706	0,675
NuBBE_536	0,576	0,670
NuBBE_1426	0,569	0,670
NuBBE_585	0,582	0,669
NuBBE_1983	0,559	0,668
NuBBE_2369	0,546	0,666
NuBBE_1186	0,554	0,666
NuBBE_104	0,561	0,665
NuBBE_1845	0,539	0,664
NuBBE_1858	0,570	0,657
NuBBE_2372	0,629	0,655
NuBBE_1279	0,577	0,650
NuBBE_351	0,574	0,650
NuBBE_1479	0,560	0,649
NuBBE_556	0,544	0,648
NuBBE_1049	0,540	0,647
NuBBE_2371	0,555	0,647
NuBBE_877	0,581	0,645
NuBBE_1861	0,567	0,644

NuBBE_82	0,567	0,643
NuBBE_1324	0,570	0,643
NuBBE_1556	0,588	0,642
NuBBE_1304	0,569	0,640
NuBBE_2083	0,549	0,639
NuBBE_1029	0,540	0,637
NuBBE_1670	0,596	0,636
NuBBE_1051	0,541	0,635
NuBBE_1665	0,565	0,635
NuBBE_214	0,587	0,635

4.2 Docking Molecular

Depois da triagem virtual os 67 compostos em comum foram utilizados para o *docking* molecular pelo AutoDock Vina, em que foi obtido valores de afinidade em kcal/mol para cada composto predito. Destes, 13 obtiveram valores melhores que o controle acarbose para as duas enzimas concomitantemente, como mostrado na tabela 2. Essas moléculas foram então avaliadas quanto as suas interações com as enzimas, mostrada nas figuras 2 e 3, avaliados quais resíduos então interagindo em cada enzima, tabela 3 e 4.

Tabela 2 – Principais compostos do *docking* molecular com as enzimas alfa-amilase e alfa-glicosidase

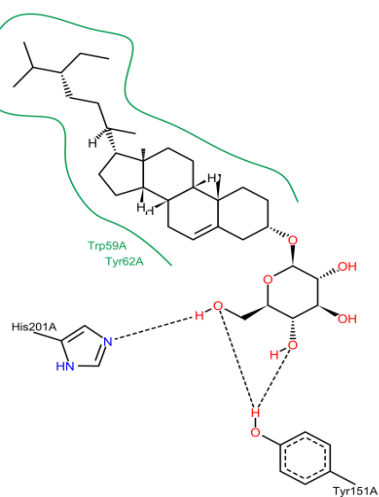
Código NuBBE	Classe	Nome	Score (kcal/mol)	Score (kcal/mol)
		Acarbose*	-9.1	-6.8
NuBBE_391	Terpenos: Esteroides	Sitosterol-3-O-β-D-glicopiranosídeo; 3-β-D-glicosil-sitosterol; Daucosterol	-9.4	-7.7
NuBBE_412	Lignoides	5-[3''-(β-D-glicopiranosiloxi)propil]-7-metoxi-2-(3',4'-metilenodioxifenil)benzofurano	-9.3	-7.1
NuBBE_557	Flavonoide: Flavonol	Kaempferol-3-O-α-L-(4''-E-p-coumaroil)-rhamnosídeo	-9.5	-8.4
NuBBE_558	Flavonoide: Flavonol	Kaempferol-3-O-α-L-(4''-Z-p-coumaroil)-rhamnosídeo	-10.6	-9
NuBBE_584	Derivados	Criptopiranmoscatona B2	-9.5	-8.2

	aromáticos: Estiril Pirona			
NuBBE_876	Chalconas	1- (5,7-dihidroxi-2,2-dimetilcroman-6-il)-3-(2,2-dimetilcroman-6-il)propan-1-ona	-10.3	-8.4
NuBBE_877	Chalconas	1-(5,7-dihidroxi-2,2-dimetilcroman-6-il)-3-[4-hidroxi-3-(3-metilbut-2-en-1-il)-fenil]propan-1-ona	-9.5	-8
NuBBE_1029	Flavonoides: Flavonol	Catequina-3-O-(3"-O-trans-cinamoil)- α -ramnopiranosídeo	-9.9	-8.8
NuBBE_1050	Terpenos: Triterpenos	Odoritol	-9.8	-8.5
NuBBE_1184	Derivados Aromáticos	Ácido elágico 3,4'-di-O-metil 4-O- β -D-6"-O-acetilglicopiranosídeo	-10.2	-8.1
NuBBE_1208	Chalconas	1-(5,7-dihidroxi-2,2-dimetilcroman-6-il)-3-(1,1,4a-trimetil-2,3,4,4a,9a-hexahidro-1H-xantina-7-il)propan-1-ona	-11.4	-7.8
NuBBE_1419	Lignoides	(+)-piperitol- γ,γ -dimetilalileter	-9.5	-8.5
NuBBE_1426	Terpenos: Triterpenos	Melianodiol	-10.5	-8.4

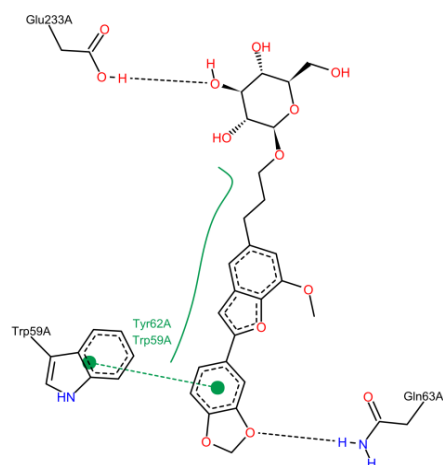
O *docking* da alfa-amilase com a acarbose gerou um valor score de -9,1 kcal/mol e os compostos da tabela 2 obtiveram valores de -9,3 a -11,4 kcal/mol os principais. Quanto aos aminoácidos de interação, já foi descrito que aqueles catalíticos no sítio ativo da alfa-amilase são Asp197, Glu233, Asp300 (BRAYER; LUO; WITHERS, 1995). A tabela 3 detalha quais são esses resíduos de interação e o tipo de interação para cada um dos compostos.

As interações, conforme a tabela 3, sugerem que no controle acarbose ocorre oito ligações de hidrogênio, e interações com dois dos aminoácidos principais. Os compostos NuBBE_412, NuBBE_557, NuBBE_558, NuBBE_877, NuBBE_1029, NuBBE_1184, NuBBE_1419 tem a possibilidade de interagirem com alguns dos 3 aminoácidos catalíticos principais, e o NuBBE_584 e NuBBE_1208 interagirem com os 3 aminoácidos mostrando-se potenciais inibidores. Outros aminoácidos como Trp59, Tyr62 e Gln63 mostram-se potenciais aminoácidos para interação (RASOULI et al., 2017).

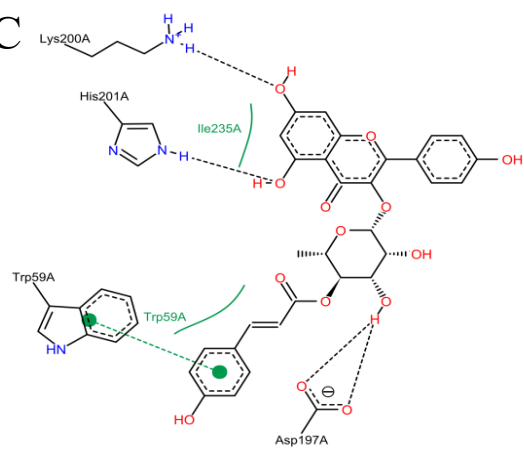
A



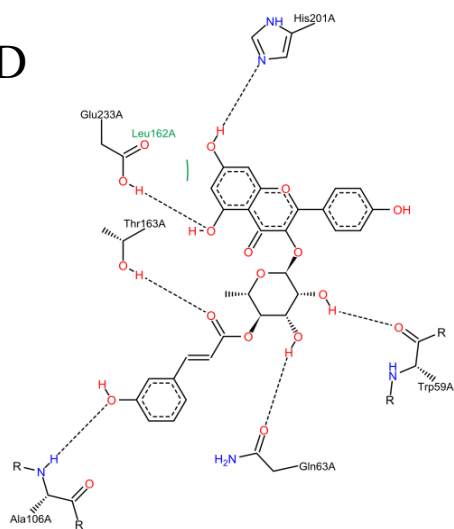
B



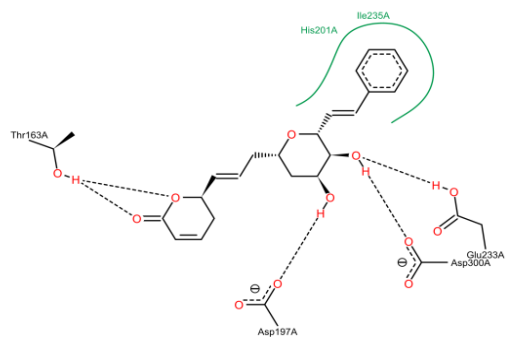
C



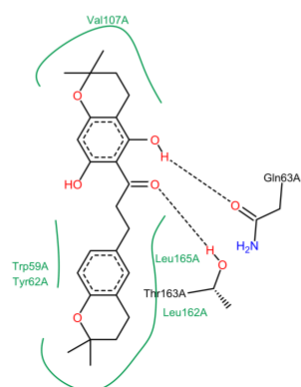
D



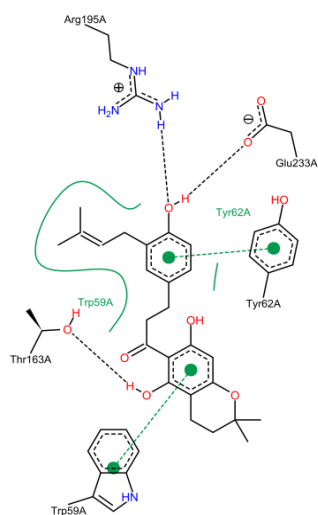
E



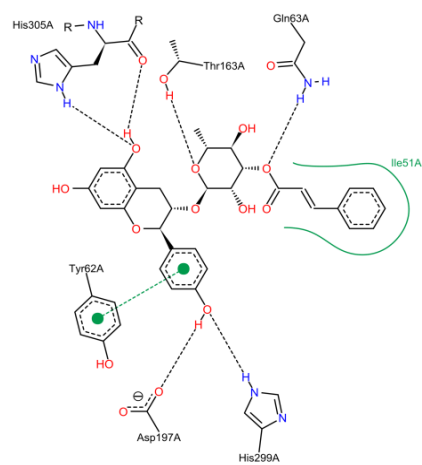
F



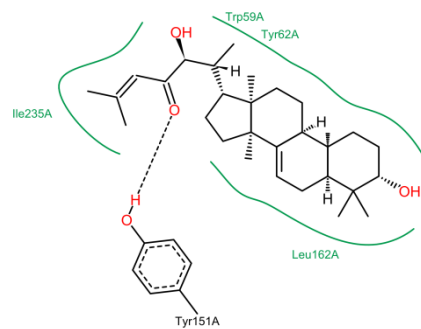
G



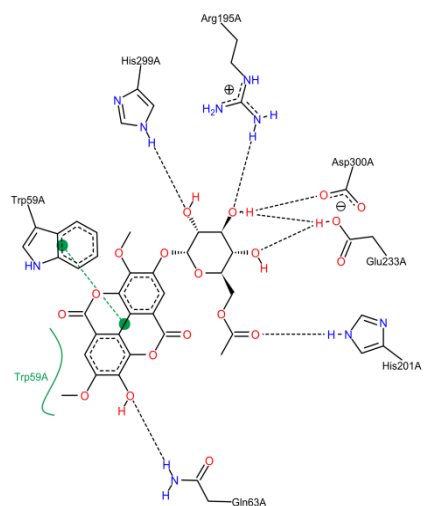
H



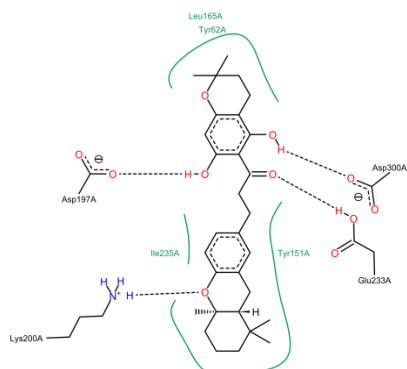
I



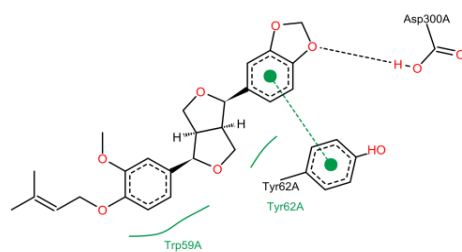
J



K



L



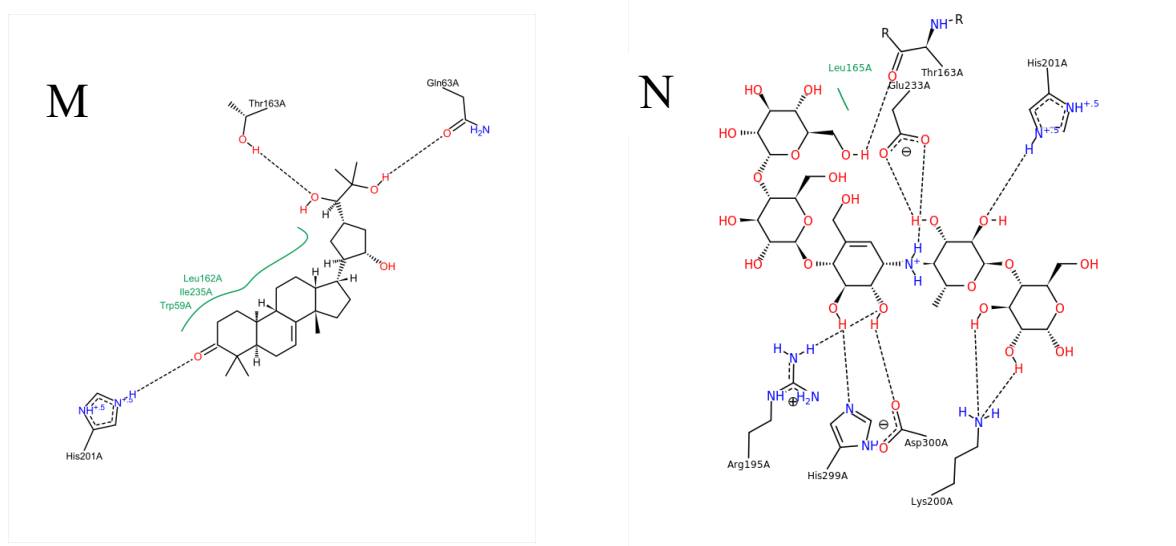


Figura 2 – Interações com a alfa-amilase dos compostos: NuBBE_391 (A), NuBBE_412 (B), NuBBE_557 (C), NuBBE_558 (D), NuBBE_584 (E), NuBBE_876 (F), NuBBE_877 (G), NuBBE_1029 (H), NuBBE_1050 (I), NuBBE_1184 (J), NuBBE_1208 (K), NuBBE_1419 (L), NuBBE_1426 (M), Acarbose (N).

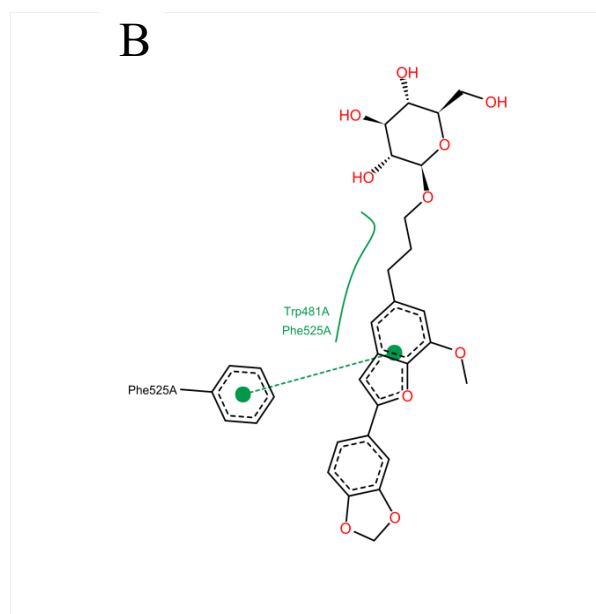
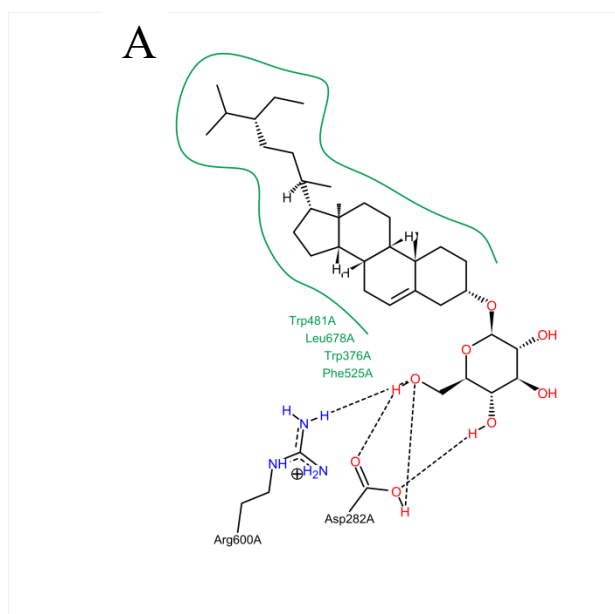
Tabela 3 – Treze melhores compostos do *docking* e os resíduos de interação da enzima alfa-amilase

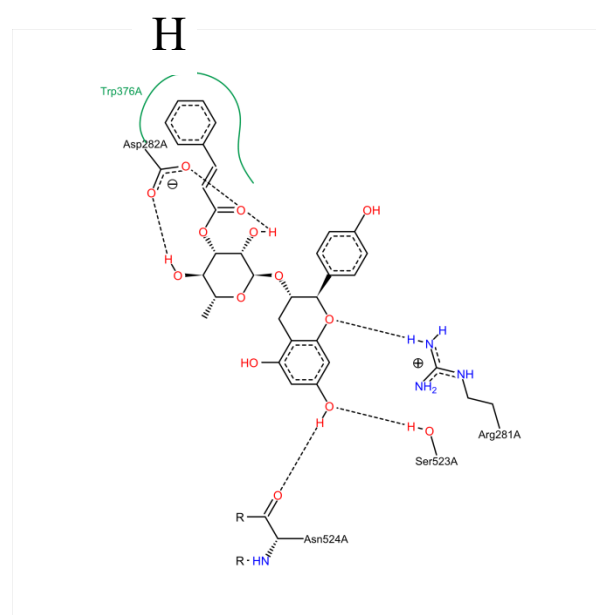
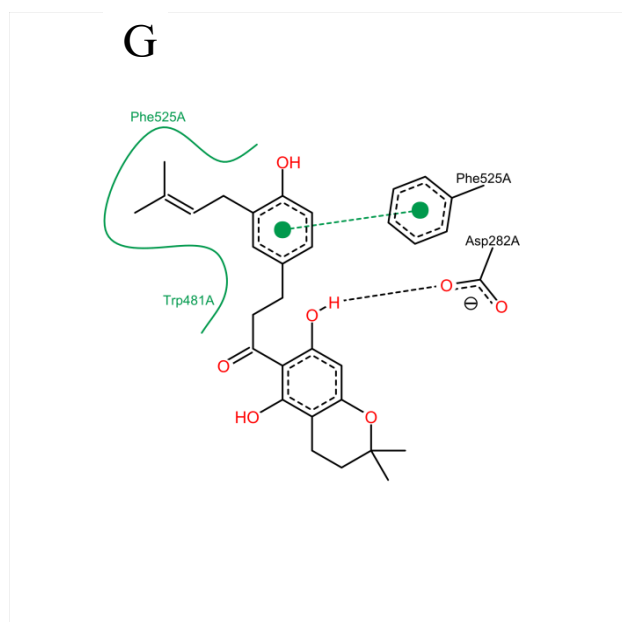
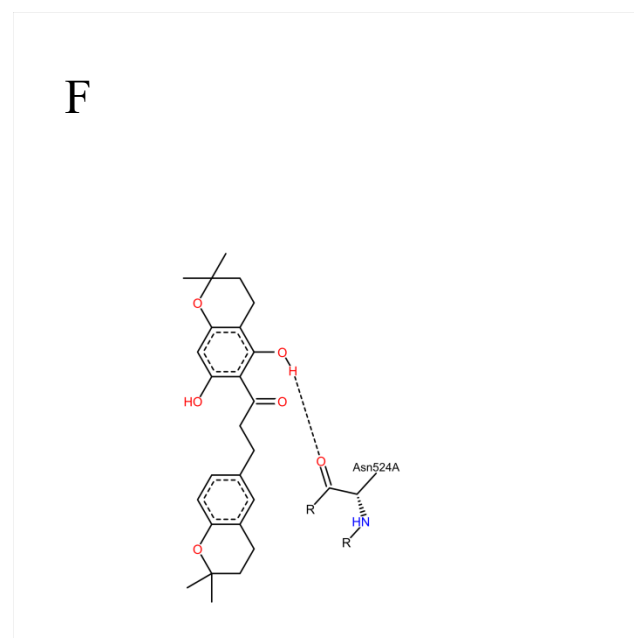
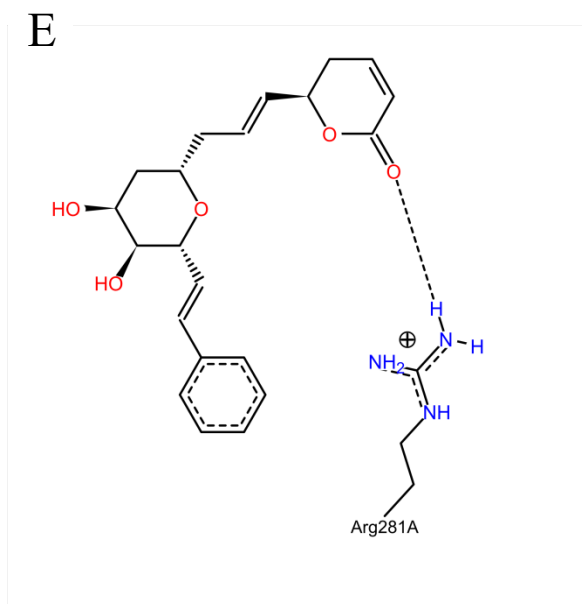
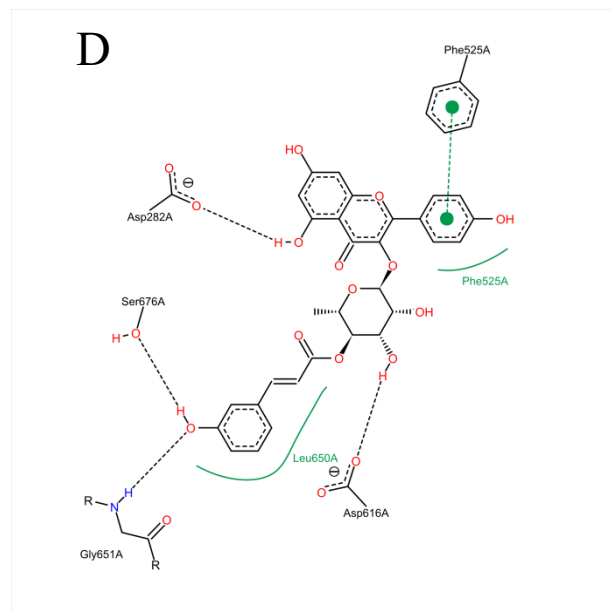
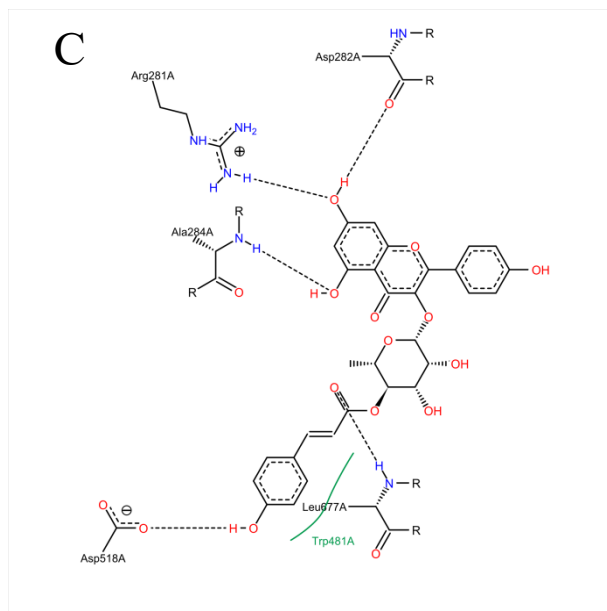
Compostos	Resíduos de interação
Acarbose	His201 (ligação de H); Thr163 (ligação de H); Arg195 (ligação de H); His299 (ligação de H); Asp300 (ligação de H); Lys200 (ligação de H); Glu233 (ligação de H); Leu165 (hidrofóbica)
NuBBE_391	Trp59 (hidrofóbica); Tyr62 (hidrofóbica); His201 (ligação de H); Tyr151 (ligação de H)
NuBBE_412	Tyr62 (hidrofóbica); Trp59 (hidrofóbica); Trp59 (π - π interação); Glu233 (ligação de H); Gln63 (ligação de H)
NuBBE_557	Trp59 (hidrofóbica); Trp59 (π - π interação); His201 (ligação de H); Ile235 (hidrofóbica); Lys200 (ligação de H); Asp197 (ligação de H)
NuBBE_558	His201 (ligação de H); Gln63 (ligação de H); Glu233 (ligação de H); Trp59 (ligação de H); Ala106 (ligação de H); Thr163 (ligação de H); Leu162 (hidrofóbica)
NuBBE_584	His201 (hidrofóbica); Ile235 (hidrofóbica); Thr163 (ligação de H); Asp197 (ligação de H); Asp300 (ligação de H); Glu233 (ligação de H);
NuBBE_876	Trp59 (hidrofóbica); Tyr62 (hidrofóbica); Leu162 (hidrofóbica); Leu165 (hidrofóbica); Gln63 (ligação de H); Val107 (hidrofóbica)
NuBBE_877	Trp59 (hidrofóbica); Trp59 (π - π interação); Tyr62 (hidrofóbica); Tyr62 (π - π interação); Thr163 (ligação de H); Glu233 (ligação de H); Arg195 (ligação de H)
NuBBE_1029	Tyr62 (π - π interação); Thr163 (ligação de H); Asp197 (ligação de H); His299 (ligação de H); His305 (ligação de H); Gln63 (ligação de H); Ile51 (hidrofóbica)
NuBBE_1050	Trp59 (hidrofóbica); Tyr62 (hidrofóbica); Leu162 (hidrofóbica); Ile235

	(hidrofóbica); Tyr151 (Ligação de H)
NuBBE_1184	Trp59 (hidrofóbica); Trp59 (π - π interação); His201 (ligação de H); Gln63 (ligação de H); His299 (ligação de H); Arg195 (ligação de H); Asp300 (ligação de H); Glu233 (ligação de H);
NuBBE_1208	Tyr62 (hidrofóbica); Leu165 (hidrofóbica); Asp300 (ligação de H); Asp197 (ligação de H); Try151 (hidrofóbica); Glu233 (ligação de H); Lys200 (ligação de H); Ile235 (hidrofóbica);
NuBBE_1419	Tyr62 (hidrofóbica); Tyr62 (π - π interação); Trp59 (hidrofóbica); Asp300 (ligação de H);
NuBBE_1426	Trp59 (hidrofóbica); His201 (ligação de H); Gln63 (ligação de H); Ile235 (hidrofóbica); Leu165 (hidrofóbica); Thr163 (ligação de H)

Para a alfa-glicosidase, o controle positivo acarbose obteve -6,8 kcal/mol de score enquanto que os compostos da tabela 2 sugerem melhor score com valores de -7,1 a -9 kcal/mol. Quanto às interações e quais resíduos de interação, foi feita a comparação com o controle, uma vez que a alfa-glicosidase humana foi publicada recentemente no PDB (ROIG-ZAMBONI et al., 2017). Trabalhos anteriores realizaram *docking* e análises computacionais em modelos por homologia (LUTHRA et al., 2017).

A acarbose teve possíveis interações de hidrogênio com os resíduos Arg600, Asp282, Asp616, Asp404 e His674, enquanto que os compostos que obtiveram pelo menos uma interação com esses resíduos são Nubbe_391, Nubbe_1184, Nubbe_557, Nubbe_558, Nubbe_1029, Nubbe_877, Nubbe_1426.





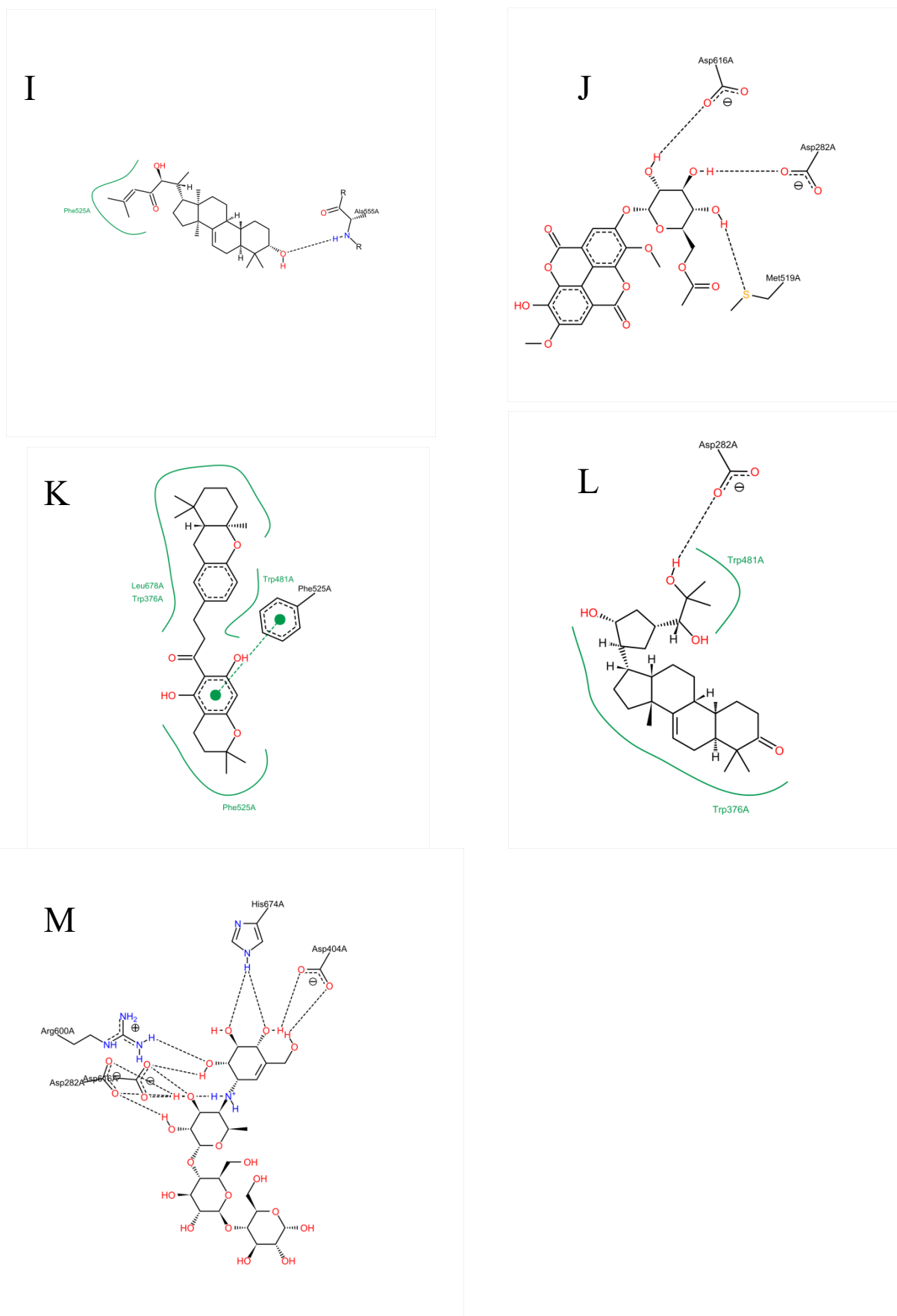


Figura 2 – Interações com a alfa-amilase dos compostos: NuBBE_391 (A), NuBBE_412 (B), NuBBE_557 (C), NuBBE_558 (D), NuBBE_584 (E), NuBBE_876 (F), NuBBE_877 (G), NuBBE_1029 (H), NuBBE_1050 (I), NuBBE_1184 (J), NuBBE_1208 (K), NuBBE_1426 (L), Acarbose (M).

Tabela 4 – Treze melhores compostos do *docking* e os resíduos de interação da enzima alfa-glicosidase.

Compostos	Resíduos de interação
Acarbose	Arg600 (ligação de H); Asp282 (ligação de H); Asp616 (ligação de H); Asp404 (ligação de H); His674 (ligação de H)
NuBBE_391	Trp481 (hidrofóbica); Leu678 (hidrofóbica); Trp376 (hidrofóbica); Phe525 (hidrofóbica); Arg600 (ligação de H); Asp282 (ligação de H)
NuBBE_412	Trp481 (hidrofóbica); Phe525 (hidrofóbica); Phe525 ($\pi - \pi$ interação)
NuBBE_557	Trp481 (hidrofóbica); Asp282 (ligação de H); Arg281 (ligação de H); Ala284 (ligação de H); Asp518 (ligação de H); Leu677 (ligação de H);
NuBBE_558	Phe525 ($\pi - \pi$ interação); Asp282 (ligação de H); Asp616 (ligação de H); Gly651 (ligação de H); Phe525 (hidrofóbica); Leu650 (hidrofóbica); Ser676 (ligação de H)
NuBBE_584	Arg281 (ligação de H)
NuBBE_876	Asn524 (ligação de H)
NuBBE_877	Phe525 ($\pi - \pi$ interação); Asp282 (ligação de H); Phe525 (hidrofóbica); Trp481 (hidrofóbica);
NuBBE_1029	Arg281 (ligação de H); Asn524 (ligação de H); Asp282 (ligação de H); Ser523 (ligação de H); Trp376 (hidrofóbica);
NuBBE_1050	Phe525 (hidrofóbica); Ala555 (ligação de H)
NuBBE_1184	Asp282 (ligação de H); Asp616 (ligação de H); Met519 (ligação de H)
NuBBE_1208	Phe525 ($\pi - \pi$ interação); Phe525 (hidrofóbica); Trp481 (hidrofóbica); Trp376 (hidrofóbica); Leu678 (hidrofóbica)
NuBBE_1419	Nenhuma interação
NuBBE_1426	Trp481 (hidrofóbica); Trp376 (hidrofóbica); Asp282 (ligação de H)

4.3 Análise farmacocinética

Com os melhores compostos preditos no *docking*, foi avaliado a propriedade de drogas, avaliando a farmacocinética como absorção, distribuição, metabolismo, eliminação e toxicidade de cada composto. Os resultados indicam quanto a absorção, uma absorção intestinal mais que 60% sendo, uma boa absorção.

Para o volume de distribuição (VDss) somente os valores de NuBBE_391, NuBBE_412 e NuBBE_1426 foram considerados baixos, $\log L/kg < -0,15$, e os compostos NuBBE_558, NuBBE_1029, e NuBBE_1208 foram considerados altos

com valores de $\log L/kg > 0,45$ indicando uma maior afinidade pelo tecido desses compostos.

Quanto ao metabolismo, foi avaliada a inibição do citocromo p (CIP) sugerindo que nenhum dos compostos é provável de inibir 2 famílias de CIP. E para a eliminação total que pode ser utilizada para determinar a dosagem a ser aplicada e concentração da droga.

A toxicidade foi mensurada através dos parâmetros AMES e de hepatotoxicidade, e indicou que apenas o composto NuBBE_584 foi tóxico para AMES, sendo possível de ser carcinogênico, e o composto NuBBE_1050 foi predito como hepatotóxico.

Tabela 5 – Propriedades farmacocinéticas, como absorção intestinal, volume de distribuição (VDss), inibição de citocromo P, eliminação total, avaliação de carcinogênese pelo método AMES e hepatotoxicidade.

Código NuBBE	Absorção intestinal (%absorvida)	VDss (log L/kg)	CIP inibidor	Eliminação Total(log ml/min/Kg)	AMES toxicidade	Hepatotoxicidade
NuBBE_391	79,677	-1,163	Não	0,689	Não	Não
NuBBE_412	67,816	-0,462	Não	-0,053	Não	Não
NuBBE_557	76,973	-0,03	Não	0,225	Não	Não
NuBBE_558	70,04	1,085	Não	-0,396	Não	Não
NuBBE_584	91,987	0,037	Não	1,448	Sim	Não
NuBBE_876	91,777	0,406	Não	0,111	Não	Não
NuBBE_877	89,164	0,444	Não	0,432	Não	Não
NuBBE_1029	71,08	0,901	Não	0,189	Não	Não
NuBBE_1050	93,448	0,004	Não	0,371	Não	Sim
NuBBE_1184	97,522	0,159	Não	0,765	Não	Não
NuBBE_1208	92,09	0,594	Não	-0,187	Não	Não
NuBBE_1419	96,262	-0,031	Não	0,06	Não	Não
NuBBE_1426	97,661	-0,293	Não	0,228	Não	Não

Os principais compostos são classificados principalmente como polifenóis, o que inclui flavonóis, chalconas, dentro de flavonoides, lignoides, e outros fenólicos como os derivados aromáticos, os polifenóis tem uma importância muito grande na

atuação contra a diabetes, como já foi descrita a sua atuação modelos in vitro e in vivo (WILLIAMSON et al., 2017).

Começando com o Kaempferol-3-O- α -L-(4"-E-p-coumaroil)-ramnosídeo, Kaempferol-3-O- α -L-(4"-Z-p-coumaroil)-ramnosídeo e Catequina-3-O-(3"-O-trans-cinamoil)- α -ramnopiranosídeo, que em suas formas simples já foram bem descritas suas atividades individuais antioxidante (ZHU; ZHANG, 2014), anti-inflamatória (GRIFFITHS et al., 2016), bem como atividade hepatoprotetora (JUSTINO et al., 2017) e inibição das hidrolases glicosídicas, (SATO et al., 2015). De acordo com o NuBBEdb, mostrado na tabela 6, estes compostos são oriundos da planta *Qualea grandiflora* (família *Vochysiaceae*). Família que também já foi descrito no laboratório para a espécie *Vochysia rufa* resultados importantes na atenuação do estresse oxidativo em ensaios in vivo de modelo de indução diabética por estreptozotocina (DE GOUVEIA et al., 2017).

Também outros flavonoides, as chalconas 1-(5,7-dihidroxi-2,2-dimetilcroman-6-il)-3-(2,2-dimetilcroman-6-il)propan-1-ona, 1-(5,7-dihidroxi-2,2-dimetilcroman-6-il)-3-[4-hidroxi-3-(3-metilbut-2-en-1-il)-fenil]propan-1-ona e 1-(5,7-dihidroxi-2,2-dimetilcroman-6-il)-3-(1,1,4a-trimetil-2,3,4,4a,9a-hexahidro-1H-xantina-7-il)propan-1-ona mostraram ótimos resultados no *docking* um recente estudo descreveu atividades inibitórias da classe das chalconas contra as enzimas alfa-amilase e alfa-glicosidase (SUN et al., 2017). No banco de dados todas as chalconas descritas neste trabalho são de origem da *Metrodorea stipularis* (família *Rutaceae*), mostrando o potencial dessas atividades para esta espécie, que pode ainda ser explorado.

Outros polifenóis são os lignoides 5-[3"-(β -D-glicopiranosiloxi)propil]-7-metoxi-2-(3',4'-metilenodioxifenil)benzofurano e (+)-piperitol- γ,γ -dimetilalileter, no qual os lignoides já foram descritos para a inibição da alfa-glicosidase (NGUYEN et al., 2017) e derivados aromáticos criptopiranmoscatona B2 e Ácido elágico 3,4'-di-O-metil-4-O- β -D-6"-O-acetilglicopiranosídeo que um análogo já foi descrito para inibição da alfa-glicosidase (MUTHENNA; AKILESHWARI; REDDY, 2012).

Além dos polifenóis outros compostos que também podem ter atividade foram os terpenos. Os resultados revelaram dois triterpenos e um esteroide. Odoratol e Melianodiol, os triterpenos incluídos, em que a classe de triterpenos já foi demonstrada a inibição das duas enzimas (ZHANG et al., 2017). Esteroide daucosterol tem sido descrito como inibidor da glicosidase (SHENG et al., 2014), o daucosterol está presente em diversas plantas da diversidade brasileira, de acordo com

o banco de dados, como *Qualea grandiflora* (Vochysiaceae), *Cupania vernalis* (Sapindaceae) e *Cedrela fissilis* (Meliaceae).

No presente estudo observou-se diferentes compostos da flora brasileira têm potencial para a inibição das hidrolases glicosídicas. Destaca-se também compostos ainda não referidos como inibidores para a alfa-amilase, como derivados de ácido gálico, lignoides, flavonoides glicosilados aciladosacilados diastereoisomericos, chalconas (RASOULI et al., 2017, JHONG et al., 2015).

Os resultados revelam cinco compostos principais com os melhores valores de afinidade no *docking*, interação com os principais resíduos das duas enzimas, e singularmente resultados favoráveis nos parâmetros farmacocinéticos e de toxicidade preditos, estes compostos foram os seguintes: Ácido elágico 3,4'-di-O-metil 4-O-β-D-6"-O-acetilglicopiranosídeo (NuBBE_1184), Kaempferol-3-O-α-L-(4"-E-p-coumaroil)-rhamnosídeo (NuBBE_557), Kaempferol-3-O-α-L-(4"-Z-p-coumaroil)-rhamnosídeo (NuBBE_558), Catequina-3-O-(3"-O-trans-cinamoil)-α-ramnopiranosídeo (NuBBE_1029) e 1-(5,7-dihidroxi-2,2-dimetilcroman- 6-il)-3-[4-hidroxi-3-(3-metilbut-2-en-1-il)- fenil]propan-1-ona (NuBBE_877).

Portanto, o estudo de docking e dragabilidade de compostos da biodiversidade depositados no banco NuBBEdb, que apresentaram os melhores resultados estão referenciados no NUBBEdb como pertencentes a espécies de sete famílias como descrito na Tabela 6.

Tabela 6 – Treze melhores compostos e sua respectiva origem vegetal da biodiversidade brasileira.

Código NuBBE	Classe	Nome	Origem (NuBBEdb)
NuBBE_391	Terpenos: Esteroides	Sitosterol-3-O-β-D-glicopiranosídeo; 3-β-D-glicosilsterol; Daucosterol	<i>Siphoneugena densiflora</i> (Myrtaceae); <i>Khaya senegalensis</i> (Meliaceae); <i>Qualea grandiflora</i> (Vochysiaceae); <i>Trichilia clausenii</i> (Meliaceae); <i>Esenbeckia grandiflora</i> (Rutaceae); <i>Spathelia excelsa</i> (Rutaceae); <i>Khaya anthotheca</i> (Meliaceae);

			<i>Toona ciliata</i> (Meliaceae); <i>Cedrela fissilis</i> (Meliaceae); <i>Cupania vernalis</i> (Sapindaceae); <i>Dilodendron bipinnatum</i> (Sapindaceae)
NuBBE_412	Lignoides	5-[3''-(β-D-glicopiranosiloxi)propil]-7-metoxi-2-(3',4'-metilenodioxifenil)benzofurano	<i>Styrax ferrugineus</i> (Styracaceae)
NuBBE_557	Flavonoide: Flavonol	Kaempferol-3-O-α-L-(4''-E-p-coumaroil)-rhamnosídeo	<i>Qualea grandiflora</i> (Vochysiaceae)
NuBBE_558	Flavonoide: Flavonol	Kaempferol-3-O-α-L-(4''-Z-p-coumaroil)-rhamnosídeo	<i>Qualea grandiflora</i> (Vochysiaceae)
NuBBE_584	Derivados aromáticos: Stilir Pirona	Criptopiranmoscatona B2	<i>Cryptocarya moschata</i> (Lauraceae)
NuBBE_876	Chalconas	1- (5,7-dihidroxi-2,2-dimetilcroman-6-il)-3-(2,2-dimetilcroman- 6-il)propan-1-ona	<i>Metrodorea stipularis</i> (Rutaceae)
NuBBE_877	Chalconas	1-(5,7-dihidroxi-2,2-dimetilcroman- 6-il)-3-[4-hidroxi-3-(3-metilbut-2-en-1-il)-fenil]propan-1-ona	<i>Metrodorea stipularis</i> (Rutaceae)
NuBBE_1029	Flavonoides : Flavonol	Catequina-3-O-(3''-O-trans-cinamoil)-α-ramnopiranosídeo	<i>Vochysia thyrsoidea</i> (Vochysiaceae)
NuBBE_1050	Terpenos: Triterpenos	Odoranol	<i>Cedrela odorata</i> (Meliaceae)
NuBBE_1184	Derivados Aromáticos	Ácido elágico 3,4'-di-O-metil 4-O-β-D-6''-O-acetilglicopiranosídeo	<i>Siphoneugena densiflora</i> (Myrtaceae)
NuBBE_1208	Chalconas	1-(5,7-dihidroxi-2,2-dimetilcroman-6-il)-3-(1,1,4a-trimetil-2,3,4,4a,9a-hexahidro-1H-xantina-7-il)propan-1-ona	<i>Metrodorea stipularis</i> (Rutaceae)
NuBBE_1419	Lignoides	(+)-piperitol-γ,γ-dimetilalileter	<i>Raulinoa echinata</i> (Rutaceae); <i>Zanthoxylum petiolare</i> (Rutaceae)
NuBBE_1426	Terpenos: Triterpenos	Melianodiol	<i>Raulinoa echinata</i> (Rutaceae);

5. CONCLUSÃO

A triagem virtual e posteriormente o *docking*, indicaram polifenóis principalmente flavonoides, como os mais promissores compostos para a inibição das duas enzimas. Destacam-se os compostos Ácido elágico 3,4'-di-O-metil 4-O- β -D-6"-O-acetilglicopiranosídeo (NuBBE_1184), Kaempferol-3-O- α -L-(4"-E-p-coumaroil)-rhamnosídeo (NuBBE_557), Kaempferol-3-O- α -L-(4"-Z-p-coumaroil)-rhamnosídeo (NuBBE_558), Catequina-3-O-(3"-O-trans-cinamoil)- α -ramnopiranosídeo (NuBBE_1029) e 1-(5,7-dihidroxi-2,2-dimetilcroman-6-il)-3-[4-hidroxi-3-(3-metilbut-2-en-1-il)-fenil]propan-1-ona (NuBBE_877). Estes compostos encontrados nas espécies da flora brasileira além de poderem ser bons inibidores das duas hidrolases glicosídicas, podem também ser potenciais drogas como indicado pela predição de farmacocinética indicando parâmetros ADMET favoráveis. Como perspectivas este estudo indica que acesso aos compostos aqui revelados poderá possibilitar a confirmação biológica de suas atividades de inibição das alfa-amilases e alfa-glicosidases, e a possível utilização dos mesmos como modelos para descoberta de novos fármacos.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEIXO, A. et al. **Mudanças Climáticas e a Biodiversidade dos Biomas Brasileiros: Passado, Presente e Futuro** Natureza a Conservacao, 2010.

ALWAN, A. D.; GALEA, G.; STUCKLER, D. Development at risk: Addressing noncommunicable diseases at the United Nations high-level meeting. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 89, n. 8, 2011.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes. **Diabetes Care**, v. 39, n. Supplement 1, p. S13–S22, 2016.

BABU, P. V. A.; LIU, D.; GILBERT, E. R. **Recent advances in understanding the anti-diabetic actions of dietary flavonoids** *Journal of Nutritional Biochemistry*, 2013.

BARBOSA, P. O. et al. Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp dietary intake improves cellular antioxidant enzymes and biomarkers of serum in healthy women. **Nutrition**, v. 32, n. 6, p. 674–680, 2016.

BENEVIDES BAHIENSE, J. et al. Potential anti-inflammatory, antioxidant and antimicrobial activities of *Sambucus australis*. **Pharmaceutical biology**, v. 55, n. 1, p. 991–997, 2017.

BRAYER, Gary D.; LUO, Yaoguang; WITHERS, Stephen G.. The structure of human pancreatic α -amylase at 1.8 Å resolution and comparisons with related enzymes. **Protein Science**, [s.l.], v. 4, n. 9, p.1730-1742, set. 1995.

CHO, K. S. et al. Terpenes from forests and human health. **Toxicological Research**, 2017.

DE GOUVEIA, N. M. et al. Phytochemical characterization of the *Vochysia rufa* (*Vochysiaceae*) extract and its effects on oxidative stress in the pancreata of streptozotocin-induced diabetic rats. **PLoS ONE**, v. 12, n. 10, 2017.

DALLAKYAN, Sargis; OLSON, Arthur J.. Small-Molecule Library Screening by Docking with PyRx. **Methods In Molecular Biology**, [s.l.], p.243-250, 22 dez. 2014.

DUTRA, R. C. et al. Medicinal plants in Brazil: Pharmacological studies, drug discovery, challenges and perspectives. **Pharmacological Research**, v. 112, p. 4–29, 2016.

FRICKER, P. C.; GASTREICH, M.; RAREY, M. Automated drawing of structural molecular formulas under constraints. **Journal of Chemical Information and Computer Sciences**, v. 44, n. 3, p. 1065–1078, 2004.

GAMBOA-GÓMEZ, Claudia I. et al. In vitro and in vivo assessment of anti-

hyperglycemic and antioxidant effects of Oak leaves (*Quercus convallata* and *Quercus arizonica*) infusions and fermented beverages. **Food Research International**, [s.l.], v. 102, p.690-699, dez. 2017.

GRIFFITHS, Keith et al. Food Antioxidants and Their Anti-Inflammatory Properties: A Potential Role in Cardiovascular Diseases and Cancer Prevention. **Diseases**, [s.l.], v. 4, n. 3, p.28-43, 1 ago. 2016.

HAWKINS, P. C. D. et al. Conformer generation with OMEGA: Algorithm and validation using high quality structures from the protein databank and cambridge structural database. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 50, n. 4, p. 572–584, 2010.

HAWKINS, P. C. D.; SKILLMAN, A. G.; NICHOLLS, A. Comparison of Shape-Matching and Docking as Virtual Screening Tools. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 50, n. 1, p. 74–82, 1 jan. 2007.

JHONG, Chien-hung et al. Screening alpha-glucosidase and alpha-amylase inhibitors from natural compounds by molecular docking in silico. **Biofactors**, [s.l.], v. 41, n. 4, p.242-251, 7 jul. 2015

JUSTINO, Allisson Benatti et al. Hepatoprotective Properties of a Polyphenol-Enriched Fraction from *Annona crassiflora* Mart. Fruit Peel against Diabetes-Induced Oxidative and Nitrosative Stress. **Journal Of Agricultural And Food Chemistry**, [s.l.], v. 65, n. 22, p.4428-4438, 25 maio 2017.

LEI, Tailong et al. ADMET Evaluation in Drug Discovery. 18. Reliable Prediction of Chemical-Induced Urinary Tract Toxicity by Boosting Machine Learning Approaches. **Molecular Pharmaceutics**, [s.l.], v. 14, n. 11, p.3935-3953, 27 out. 2017.

LO PIPARO, E.; SCHEIB, H.; FREI, N.; WILLIAMSON, G.; GRIGOROV, M.; CHOU, C. J. Flavonoids for controlling starch digestion: structural requirements for inhibiting human alpha-amylase. **J Med Chem**, 51, 3555-3561, 2008.

LORDAN, Sinéad et al. The α -amylase and α -glucosidase inhibitory effects of Irish seaweed extracts. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 141, n. 3, p.2170-2176, dez. 2013.

LUTHRA, T. et al. A novel library of -arylketones as potential inhibitors of α -glucosidase: Their design, synthesis, in vitro and in vivo studies. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, 2017.

MARQUES, G. S. et al. *Bauhinia forficata* link (Fabaceae) as alternative therapy in the treatment of diabetes mellitus. **Revista de Ciencias Farmaceuticas Basica e Aplicada**, v. 34, n. 3, p. 313–320, 2016.

MUTHENNA, Puppala; AKILESHWARI, Chandrasekhar; REDDY, G. Bhanuprakash. Ellagic acid, a new antiglycating agent: its inhibition of N ϵ -(carboxymethyl)lysine. **Biochemical Journal**, [s.l.], v. 442, n. 1, p.221-230, 15 fev. 2012.

MYSINGER, M. M. et al. Directory of Useful Decoys, Enhanced (DUD-E): Better

Ligands and Decoys for Better Benchmarking. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 55, n. 14, p. 6582–6594, 26 jul. 2012

NEMBRI, Serena et al. In Silico Prediction of Cytochrome P450-Drug Interaction: QSARs for CYP3A4 and CYP2C9. **International Journal Of Molecular Sciences**, [s.l.], v. 17, n. 6, p.914-933, 9 jun. 2016.

NGUYEN, Thi Trang et al. A new lignan and a new alkaloid, and α -glucosidase inhibitory compounds from the grains of *Echinochloa utilis* Ohwi & Yabuno. **Bioorganic Chemistry**, [s.l.], v. 74, p.221-227, out. 2017

PAYNE, R. M. E. et al. An NPF transporter exports a central monoterpene indole alkaloid intermediate from the vacuole. **Nature Plants**, v. 3, 2017.

PENG, Xi et al. Inhibitory kinetics and mechanism of kaempferol on α -glucosidase. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 190, p.207-215, jan. 2016.

PILON, A. C. et al. NuBBEDB: An updated database to uncover chemical and biological information from Brazilian biodiversity. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, 2017.

PIRES, D. E. V.; BLUNDELL, T. L.; ASCHER, D. B. pkCSM: Predicting Small-Molecule Pharmacokinetic and Toxicity Properties Using Graph-Based Signatures. **Journal of Medicinal Chemistry**, 58, 4066-4072, 2015.

RAFFA, D. et al. Recent discoveries of anticancer flavonoids. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 2017.

RASOULI, H. et al. Differential α -amylase/ α -glucosidase inhibitory activities of plant-derived phenolic compounds: a virtual screening perspective for the treatment of obesity and diabetes. **Food Funct.**, v. 8, n. 5, p. 1942–1954, 2017.

QIN, X. et al. Structures of human pancreatic alpha-amylase in complex with acarviosatins: Implications for drug design against type II diabetes. **J Struct Biol**, v. 174, n. 1, p. 196–202, 2011.

ROIG-ZAMBONI, V. et al. Structure of human lysosomal acid α -glucosidase-A guide for the treatment of Pompe disease. **Nature Communications**, v. 8, n. 1, 2017.

SATOH, Takashi et al. Inhibitory effect of black tea and its combination with acarbose on small intestinal α -glucosidase activity. **Journal Of Ethnopharmacology**, [s.l.], v. 161, p.147-155, fev. 2015.

SHENG, Zhanwu et al. Isolation and Characterization of an α -Glucosidase Inhibitor from *Musa* spp. (Baxijiao) Flowers. **Molecules**, [s.l.], v. 19, n. 7, p.10563-10573, 18 jul. 2014.

SOUSA, Raquel Maria Ferreira de. **ESTUDO QUÍMICO DE *Eugenia calycina* Cambess E AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTIMICROBIANA, ANTIOXIDANTE E INIBIDORA DE ALFA-AMILASE.** 2015. 222 f. Tese (Doutorado) - Curso de Pós Graduação em Química, Instituto de Química,

Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2015.

STIERAND, K.; MAAS, P. C.; RAREY, M. **Molecular complexes at a glance: Automated generation of two-dimensional complex diagrams**. *Bioinformatics*. **Anais...**2006

SUN, Hua et al. Natural Prenylchalconaringenins and Prenylnaringenins as Antidiabetic Agents: α -Glucosidase and α -Amylase Inhibition and in Vivo Antihyperglycemic and Antihyperlipidemic Effects. **Journal Of Agricultural And Food Chemistry**, [s.l.], v. 65, n. 8, p.1574-1581, 17 fev. 2017.

TANG, D. et al. Anti-diabetic effect of three new norditerpenoid alkaloids in vitro and potential mechanism via PI3K/Akt signaling pathway. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 87, p. 145–152, 2017.

TANVEER, A. et al. Management of diabetic complications through fruit flavonoids as a natural remedy. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 57, n. 7, p. 1411–1422, 2017.

TRINH, B. T. D.; STAERK, D.; JÄGER, A. K. Screening for potential α -glucosidase and α -amylase inhibitory constituents from selected Vietnamese plants used to treat type 2 diabetes. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 186, p. 189–195, 2016.

TROTT, O.; OLSON, A. J. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. **J Comput Chem**, 31, 455-461,2010.

WANG, Y. et al. Subcritical ethanol extraction of flavonoids from *Moringa oleifera* leaf and evaluation of antioxidant activity. **Food Chemistry**, v. 218, p. 152–158, 2017.

WILLIAMSON, G. et al. The role of polyphenols in modern nutrition. **Nutrition Bulletin**, [s.l.], v. 42, n. 3, p.226-235, 15 ago. 2017

XU, Y. et al. Borapetoside E, a Clerodane Diterpenoid Extracted from *Tinospora crispa*, Improves Hyperglycemia and Hyperlipidemia in High-Fat-Diet-Induced Type 2 Diabetes Mice. **Journal of Natural Products**, v. 80, n. 8, p. 2319–2327, 2017.

ZHANG, Bo-wei et al. Pentacyclic triterpenes as α -glucosidase and α -amylase inhibitors: Structure-activity relationships and the synergism with acarbose. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, [s.l.], v. 27, n. 22, p.5065-5070, nov. 2017.

ZHU, Weili; ZHANG, Zhanjun. Preparation and characterization of catechin-grafted chitosan with antioxidant and antidiabetic potential. **International Journal Of Biological Macromolecules**, [s.l.], v. 70, p.150-155, set. 2014.