TRIAGEM VIRTUAL EM MPO E FARMACOCINÉTICA DA DICLORO CHALCONA DERIVADA DE ÁCIDO-3-RODANINA ACÉTICO: UMA ENTIDADE QUÍMICA PROMISSORA CONTRA ARTRITE REUMATÓIDE

Raionára Bruna Silva Costa[1], Matheus Nunes da Rocha[1], Damião Sampaio de Sousa[1], Márcia Machado Marinho[2,3], Hélcio Silva dos Santos[3,4], Emmanuel Silva Marinho[1]

[1]Grupo de Química Teórica e Eletroquímica, Universidade Estadual do Ceará, Limoeiro do Norte, CE, Brasil (raionara.bruna@aluno.uece.br)
[2]Faculdade de Educação, Ciências e Letras de Iguatu, Universidade Estadual do Ceará, Iguatu, CE, Brasil
[3]Departamento de Química Biológica, Universidade Regional do Cariri, Crato, CE, Brasill
[4]Centro de Ciência e Tecnologia - Curso de Química, Universidade Estadual Vale do Acaraú, Sobral, CE, Brasil

Resumo: Neste trabalho são abordadas uma série de propriedades de ordem físico-química, de uma chalcona sintética derivada de rodanina. A aplicação da técnica de triagem virtual baseada em estrutura indicou que a chalcona apresenta fármaco-similaridade com compostos inibidores de colagenase do tipo 3 e 13, associado ao tratamento da artrite reumatóide, com forte contribuição da subestrutura de ácido-3-rodanina acético, que é facilmente absorvida e metabolizada sem risco tóxico ao hospedeiro.

Palavras-chave: chalconas sintéticas; farmacocinética; MMP; ácido-3-rodadina acético

INTRODUÇÃO

A artrite reumatoide (AR) pertence ao grupo de doenças articulares inflamatórias imunomediadas (Brandão et al., 2020). É uma doença inflamatória, incurável, crônica, sistêmica e com alto impacto socioeconômico, pois além das despesas, os portadores possuem restrições para desenvolverem atividades por conta das dores, edemas, deformidades o que gera um impacto significativo na qualidade de vida dos mesmos (Andrade & Dias, 2019). Normalmente, a AR é diagnosticada por uma combinação de sintomas do paciente, resultados de exames médicos, avaliação de fatores, histórico familiar, avaliação conjunta por ultrassonografia e avaliação de marcadores laboratoriais, como níveis elevados de PCR e VHS no soro e detecção de AR - autoanticorpos específicos (Aletaha & Smolen, 2018).

Existem diversos estudos direcionados a etiologia dessa doença, e consequentemente diversas hipóteses, porém, não confirmadas para chegar-se à cura da mesma. O tratamento medicamentoso da AR é constituído em monoterapia ou em combinação, sendo administrados anti-inflamatórios não-esteroides (AINEs), glucocorticoides (GCs) e fármacos antirreumáticos modificadores da evolução da doença (DMARDs) (NEGREI et al., 2016).

As chalconas constituem ferramentas farmacológicas de suma importância para os químicos medicinais. Elas são pertencentes a classe dos flavonoides de cadeia aberta, abundantemente encontradas em plantas das famílias Leguminosae, Compositae e Moraceae, estão presentes em frutas, vegetais, grãos, raízes, flores, chás, vinhos, produtos regularmente utilizados para consumo humano. É uma cetona aromática que forma um núcleo central para uma variedade de compostos biológicos importantes, elas são comprovadas em diversos estudos teóricos como um candidato promissor a fármaco. De ocorrência natural, bem como seus análogos sintéticos, demonstraram exibir atividades biológicas e farmacológicas interessantes e diversas (K. A. Ferreira et al. 2018).

As chalconas possuem uma estrutura química única e apresentam uma ampla gama de atividades farmacológicas, dependendo da natureza, número e posição dos substituintes nos anéis aromáticos A e B, unidos por uma estrutura aberta de cetona α,β-insaturada. Dependendo desses fatores, alguns dos derivados de chalcona exibem inúmeras atividades biológicas, como antiinflamatória (Özdemir et al., 2015), antinociceptiva (Mohamad et al., 2010), anticonvulsivante (M. Nassar et al., 2016), antioxidante (Vanangamudi et al., 2017), atividades anti-hiperglicêmicas (Negri 2005). Em função dos seus efeitos farmacológicos e baixa toxicidade, diferentes derivados chalcônicos sintéticos, baseados em seus análogos naturais, têm sido investigados como agentes terapêuticos em doenças inflamatórias como artrite reumatoide (Jeon et al. 2017)

Para este estudo foi selecionada uma chalcona contendo ácido-3-rodadina acético (2-((5E)-5-(4-((E)-3-(2,4-diclorofenil)-3-oxoprop-1-enil)benzilideno)-4-oxo-2-thioxo thiazolidine-3-il)acético) com potencial efeito inibitório enzimático, a partir do estudo in vitro de (Chen et al., 2010), como mostra a Figura 1. As diversas atividades biológicas das rodaninas e seus análogos são conhecidas desde o início do século XX por sua riqueza terapêutica, que inclui atividades antibacterianas, antifúngicas, antivirais, antimaláricas, inseticidas, herbicidas, antitumorais, anti-inflamatórias e cardiotônicas, incluindo atividade frente à artrite reumatóide (Tomasic and Masic 2009).

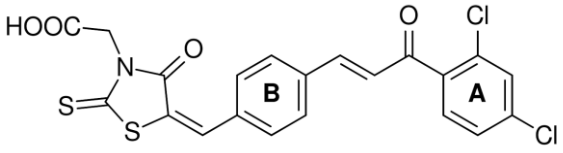


Figura 1. Estrutura bidimensional da dicloro-calcona derivada de ácido-3-rodanina acético.

A indústria farmacêutica está sob crescente pressão para aumentar sua taxa de sucesso em trazer medicamentos para o mercado (LYNE, 2002), desse modo, com o avanço tecnológico, a triagem virtual tem ganhado mais espaço e grande atuação nesses estudos, aumentando cada vez mais a eficácia e celeridade do processo. A aplicação do desenho racional de medicamentos baseado em estrutura é comprovadamente mais eficiente do que a forma tradicional de descoberta de medicamentos, pois visa entender a base molecular de uma doença e utiliza o conhecimento da estrutura tridimensional do alvo biológico no processo (LIONTA et al., 2014). A utilização desse método é normalmente usada na fase inicial do processo de design de medicamentos, a fim de avaliar compostos com potencial para apresentar atividade contra o alvo proteico escolhido (DA ROCHA et al., 2021).

Neste contexto, o presente trabalho versa sobre a aplicação da técnica de triagem virtual baseada em estrutura química, com o objetivo de realizar uma caracterização in silico das propriedades físico-químicas, assim como suas propriedades farmacocinéticas e de bioatividade com as diversas classes de alvos do sistema biológico humano a partir do teste de similaridade com substâncias presentes em bases de dados farmacológicos disponíveis na web.

MATERIAL E MÉTODOS

A estrutura química da dicloro chalcona contendo ácido-3-rodanina acético (3RCHAL) foi obtida a partir de um estudo de síntese orgânica de Chen et al., (2010), relatada como o melhor inibidor enzimático dentre uma série de rodadina-chalconas, com estrutura bidimensional evidenciada na Figura 1.

Cálculo de pKa e estimativa das micro espécies

Inicialmente, a estrutura bidimensional da 3RCHAL (Figure 1) foi desenhada no *software* de licença acadêmica MarvinSketch versão 22.5, ChemAxon (https://chemaxon.com/products/marvin), para o cálulo da constante de ionização ácida (pKa), onde foi estimada a distribuição das micro espécies do sistema molecular da chalcona em função da variação do pH, seguindo a relação de Henderson-Hasselbalch

$$pH = pKa + \log \frac{base\ conjugada}{ácido\ fraco}$$

onde a equivalência pH = pKa é o ponto de equilíbrio entre o ácido fraco e sua base conjugada (Rocha et al., 2019).

Triagem virtual das classes alvo

Posteriormente, a estrutura foi reportada para o servidor online SwissTargetPrediction (http://www.swisstargetprediction.ch/) para estimativa das classes de alvos e alvos biológicos específicos de interação, baseado em um teste de similaridade com compostos da base de dados da ChEMBL, embutida no servidor. O método de triagem é baseado na similaridade dos vetores dimensionais (20x20) da molécula i submetida e uma molécula j da base de dados, definida pela distância d de Manhattan, que considera o somatório dos vetores reais entre o ligante submetido e todos os ligantes similares da base de dados (Gfeller et al., 2014).

$$1/\left(1+\tfrac{1}{18}d_{ij}\right) \quad (2)$$

$$\left(d=\sum_{s=1}^{18}|x_s-y_s|\right) \quad (3)$$

Propriedades químico-medicinais

As propriedades físico-químicas da chalcona foram calculadas e aplicadas aos critérios da química medicinal da empresa farmacêutica Pfizer, a partir do algoritmo de MPO (Otimização de multiparâmetros), dentro do software MarvinSketch, para avaliar as propriedades de lipofilicidade intrínseca (logP) e tampão (logD), massa molecular (MM), área de superfície polar topológica (TPSA), doadores de Hidrogênio (DH) e pKa do centro mais básico, dentro de um alinhamento que gera uma pontuação de viabilidade farmacocinética e de segurança.

Propriedades farmacocinéticas

Baseado na metodologia de (Lima et al., 2021), o teste preditivo de farmacocinética considera a combinação de dois serviços disponíveis online para avaliação consensual de parâmetros associados a Absorção, Distribuição, Metabolismo e Excreção (ADME) de fármacos. A estrutura bidimensional da chalcona foi submetida à estimativa dos descritores farmacocinéticos dos servidores online ADMETlab

2.0 (https://admetmesh.scbdd.com/) e ADMET - LMC (http://qsar.chem.msu.ru/admet/), incluindo permeabilidade aparente (Papp), substrato da glicoproteína-P (P-gp), absorção gastrointestinal (GI), atividade no sistema nervoso central (SNC) pela permeabilidade na barreira hematoencefálica (BHE) e taxa de depuração hepática (clearance), através do teste de similaridade com fragmentos que melhoram ou limitam a atividade farmacológica de diversos compostos depositados nas bases de dados das duas plataformas.

Sítio de metabolismo e toxicidade

Para estimativa do metabolismo e dos efeitos tóxicos da administração oral da 3RCHAL, a molécula foi submetida à predição fragmental da ferramenta XenoSite (https://swami.wustl.edu/xenosite), para predição dos sítios e grupos funcionais mais sensíveis à biotransformação de primeira passagem no fígado, induzidas pelas isoformas metabolizadoras de fármacos do citocromo P450 (CYP450). A predição foi apoiada pela estimativa de substratos e inibidores de CYP450 majoritárias (tipos 2C9, 2D6 e 3A4) e hepatotoxicidade humana do servidor ADMETlab 2.0, bem como da estimativa da dose letal (DL50) do conjunto de dados do servidor GUSAR Online, da companhia Way2Drug (http://www.way2drug.com/gusar/).

Estimativa de efeito cardiotóxico

Por fim, a estrutura bidimensional foi reportada ao servidor online Pred-hERG 4.2 (http://predherg.labmol.com.br/) para estimativa dos fragmentos que sejam considerados toxicóforos frente aos canais de transporte de íons hERG (human Ether-à-go-go-Related Gene) do sistema cardiovascular. A decisão empírica consiste em um mapa de probabilidade 2D, apoiada pela estimativa da constante de afinidade com os canais hERG, utilizando as regressões estatísticas baseadas em relação estrutura-atividade do servidor ADMET - LMC, como modelo de cardiotoxicidade preditiva.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Cálculo de pKa e micro espécie principal

Em observações experimentais publicadas por Martin (2005), é notória a presença de substâncias aniônicas entre compostos que mostram ótima biodisponibilidade oral em ratos, em um conjunto de dados avaliados para permeabilidade seletiva em células de adenocarcinoma de cólon (Caco-2), como modelo celular utilizado para a estimativa da absorção intestinal. No gráfico de distribuição da figura 2a, é possível observar que o valor de pKa estimado em 3.64, associado ao grupo carboxila, sugere a predominância da espécie ácida em níveis de pH ácido. Contudo, o equilíbrio químico se desloca no sentido da formação da base conjugada em pH fisiológico (pH de aproximadamente 7,4), seguindo uma concentração relativa na ordem de 100% para o ânion carboxilato formado de carga líquida -1.

Triagem virtual das classes alvo

A triagem virtual baseada em estrutura pode auxiliar na condução da atividade biológica de uma substância recém descoberta ou caracterizada. A técnica é baseada em um teste de similaridade estrutural do composto de entrada (input) com compostos depositados base de dados, cuja atividade seja conhecida. Neste estudo foi utilizada a base de dados moleculares da ChEMBL, onde foi possível observar que a 3RCHAL possui uma tendência em realizar a maioria de suas interações biológicas frente a proteases, em uma ordem de 46,7%, destacando a similaridade com, pelo menos, 171 compostos tridimensionalmente caracterizados capazes de inibir o alvo de colagenase, codificado pelo gene MMP do tipo 3 e 13, associado ao tratamento da artrite reumatóide (Figura 2b), com forte contribuição estrutural do ácido-3-rodadinacético para-substituído no anel B da chalcona, como fragmento privilegiadamente tratado na literatura farmacêutica frente à artrite (Tomasic and Masic 2009).

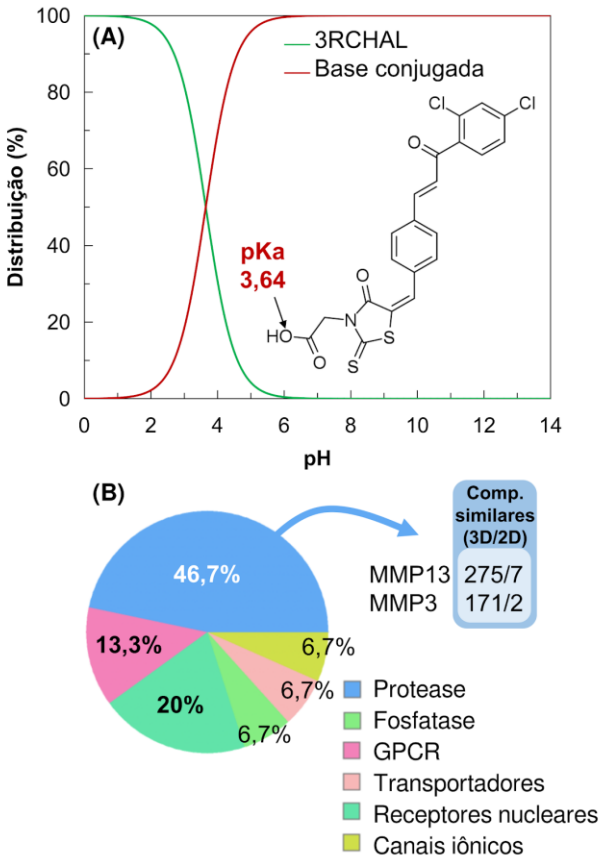


Figura 2. Distribuição das micro espécies pelo cálculo de pKa (A) e estimativa das interações biológicas por triagem virtual (B).

Propriedades químico-medicinais

Em um estudo recentemente realizado pela Pfizer, Inc., (Wager et al., 2016), é possível observar que bases fracas e pouco lipofílicas em pH fisiológico (logP/D < 3), que são maiores e mais polares que substâncias ativas no SNC (MM < 360 g/mol e TPSA > 40 Å²) apresentam um alinhamento entre atributos farmacocinéticos in vitro, incluindo: alta permeabilidade passiva (Papp), baixo efluxo por glicoproteína-P (P-gp) e baixa taxa de depuração. Em uma visualização no radar da Figura 3a, é possível notar que a chalcona apresentou um nível de lipofilicidade intrínseca acima do ideal (logP > 3), mas mostrou uma lipofilicidade tampão favorável com a formação do grupo carboxilato (COO^-), estimado em 1,54 pelo logD em pH 7,4. Além disso, a superfície polar topológica na ordem de 74,68 Å², com forte contribuição dos grupos aceitadores de hidrogênio (NR3 e C=O) diminui a efetividade da substância no SNC. Portanto, o valor de MPO na ordem de 3,93 é uma pontuação da química medicinal da chalcona, em uma escala que varia de 0 (baixa viabilidade) até 6 (alta viabilidade), conforme a satisfação dos critérios físico-químicos individuais de cada propriedade, que inclui: logP < 3, logD < 2, MM < 360 g/mol, TPSA entre 40~90 Å², menos que 1 doador de hidrogênio e pKa do centro mais básico < 8 (Tabela 1).

Tabela 1. Propriedades físico-químicas calculadas e aplicadas aos critérios de química medicinal do algoritmo de MPO da Pfizer.

Propriedade	Valor	Limites médios	Pontuação
logP	4,95	≤ 3	0,03
logD em pH 7,4	1,54	≤ 2	1,00
MM	478,36 g/mol	≤ 360 g/mol	0,15
TPSA	74,68 Å²	40~90 Å²	1,00
Doadores de H	1	< 1	0,75
pKa (mais básico)	-4,56	≤ 8	1,00
Pontuação de MPO			3,93
Regra da Pfizer			Aceito

Abreviações: MM (Massa molecular); TPSA (área de superfície polar topológica), DH (doador de hidrogênio); MPO (Otimização de multiparâmetros).

Propriedades farmacocinéticas

Para Johnson et al., (2009), a lipofilicidade tampão estimada (logD), quando alinhada a massa molecular (MM), pode substituir outras propriedades físico-químicas comumente utilizadas na descoberta de novos medicamentos para indicar o grau de permeabilidade intestinal, geralmente testada in vitro via linhagem celular Caco-2, e estabilidade metabólica de uma substância, estimada pela taxa de depuração hepática. Com a análise do gráfico de Golden Triangle da Figura 3a, é válido notar que a base conjugada da 3RCHAL, formada a partir da conversão fisiológica, ocupa um espaço físico-químico onde há uma maior incidência de compostos com alta permeabilidade e boa estabilidade metabólica do conjunto de dados da Pfizer (200 < MM < 500 g/mol e -2 < logD < 5) (Johnson et al., 2009). Esta predição corrobora com a estimativa dos descritores farmacocinéticos, onde o valor de Papp a ordem de 1.1×10^{-5} cm/s sugere uma permeabilidade celular passiva no trato gastrointestinal (GI), enquanto a baixa taxa de depuração de 1.266 mL/min/kg garante uma ótima biodisponibilidade oral (Tabela 2).

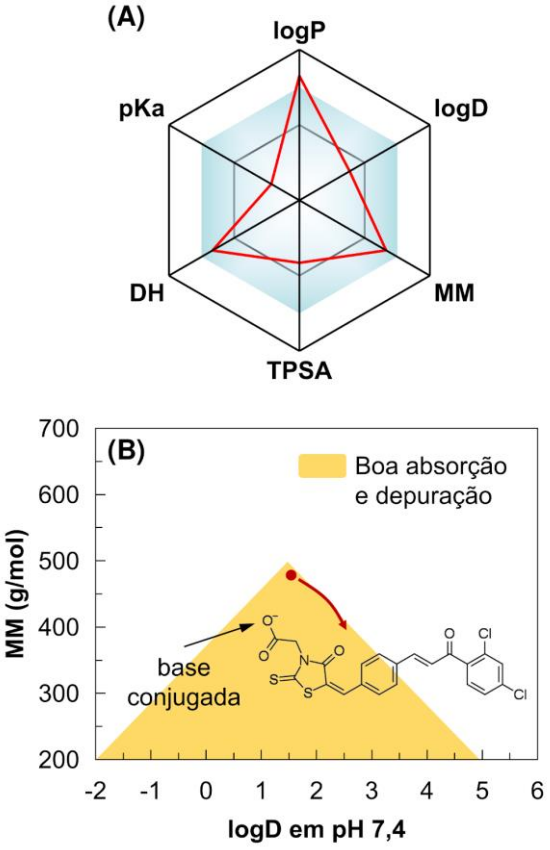


Figura 3. Espectro químico-medicinal da 3RCHAL (A) e espaço ocupado do conjunto de dados da Pfizer (B).

A polaridade topológica é uma soma das contribuições polares de dos doadores (NH ou OH) e aceitadores (N ou O) de ligação de hidrogênio, e está diretamente relacionada ao grau de penetração no SNC pela barreira hematoencefálica (BHE). Para Wager et al., (2016), compostos com TPSA < 40 Å² são ativos no SNC e apresentam um alerta neurotóxico.

Neste estudo, foi aplicado o método de leitura fragmental para estimar a permeabilidade BHE, onde

a área de superfície polar estimada em 74,68 Å², evidenciada pelas regiões avermelhadas da superfície 3D da Figura 4a, possui uma forte contribuição do grupo carboxila (37,30 Å²) que torna a penetração no SNC pouco provável ou efetiva, com coeficiente de permeabilidade estimado em -1,42 (Figura 4b).

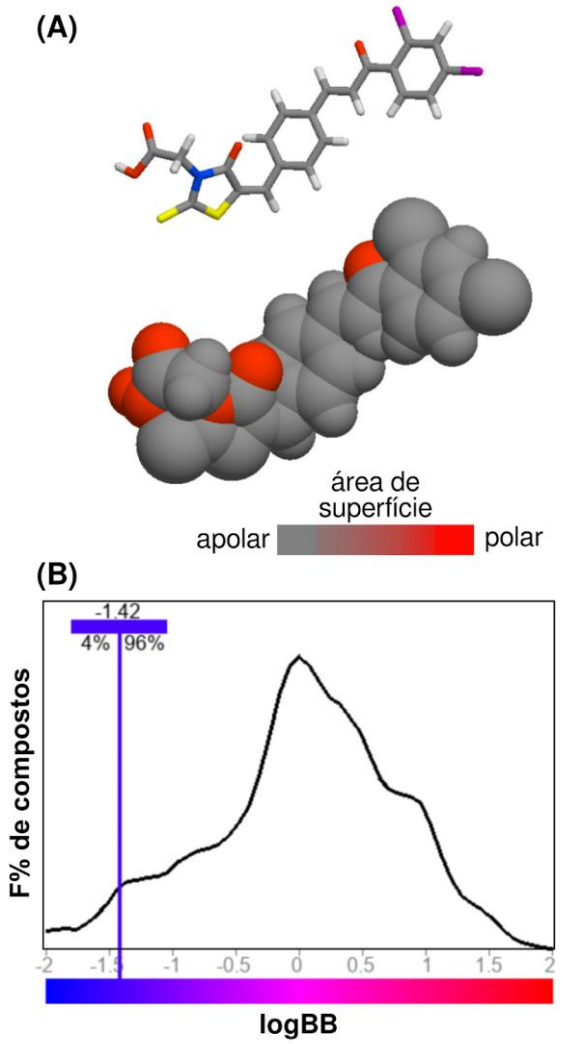


Figura 4. Área de superfície polar topológica da 3RCHAL (A) e estimativa de permeabilidade BHE pelo valor de log BB (B).

Sítio de metabolismo e toxicidade

Prever o sítio de metabolismo de uma substância nos permite evitar a formação de metabólitos secundários reativos, a partir dos mecanismos oxidativos do metabolismo de primeira passagem, mediados pelas isoenzimas do citocromo P450 (CYP450) (Wu et al., 2019). De forma geral, substratos de CYP450 tendem a ser biotransformados e necessitam de um controle da dose oral administrada, enquanto inibidores potenciais destas isoformas podem acarretar em danos ao fígado (Yu et al., 2014).

No mapa de calor da Figura 5 é possível observar os fragmentos moleculares da 3RCHAL suscetíveis à biotransformação de primeira passagem. Com a análise, é possível observar que a chalcona conta com uma probabilidade de 0,956 de se comportar como substrato da isoforma CYP2C9, tendendo a produtos N-desalquilados, com abandono da subestrutura do ácido acético (0,88), ao mesmo tempo em que a substância pode ser S-oxidada na subestrutura genérica de rodanina (0,81). Neste teste, a substância mostrou tendência a inibir a própria via de metabolismo, ou seja, a isoforma CYP2C9, mas não resultou em risco hepatotóxico, constituindo uma farmacocinética de biotransformação estável e sem a formação de metabólitos secundários reativos, permitindo o controle da dose oral de DL50 estimada em 1257 mg/kg (Tabela 2). Tal predição é realizada pela especificidade de subestruturas sensíveis à biotransformação dependente de CYP450, onde as reações de N-desalquilação e S-oxidação são mais sensíveis em baixa especificidade do que os títulos insaturados susceptíveis à hidroxilação (Zheng et al., 2009).

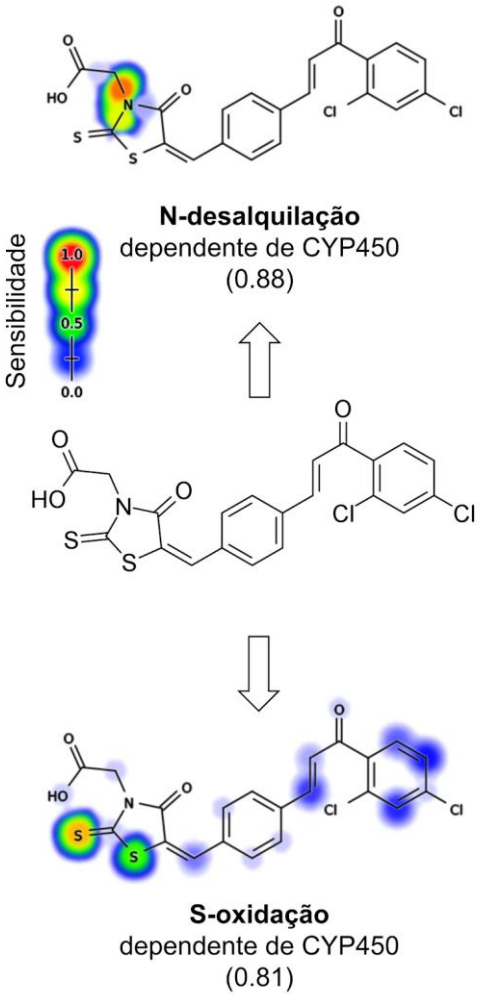


Figure 5. Principais sítios de metabolismo da 3RCHAL.

Tabela 2. Descritores farmacocinéticos estimados pelo teste consensual entre as bases de dados ADMETlab 2.0, ADMET - LMC e GUSAR Online.

Propriedade	**Valor**
Papp MDCK	$1{,}1x10^{-5}$ cm/s
P-gp (s)	-
Absorção GI	+
Penetração BHE	-
CYP450 (s)	CYP2C9 (0,956)
CYP2C9 (i)	+
CYP2D6 (i)	-
CYP3A4 (i)	-
Hepatotoxicidade	-
Depuração	1,266 mL/min/kg
DL50*	1257 mg/kg

Abreviações: Papp MDCK (Permeabilidade aparente do modelo de células renais caninas Madin-Darby); P-gp (glicoproteína-P); GI (gastrointestinal); BHE (Barreira hematoencefálica); CYP450 (citocromo P450). *DL50 estimado pelo servidor GUSAR Online.

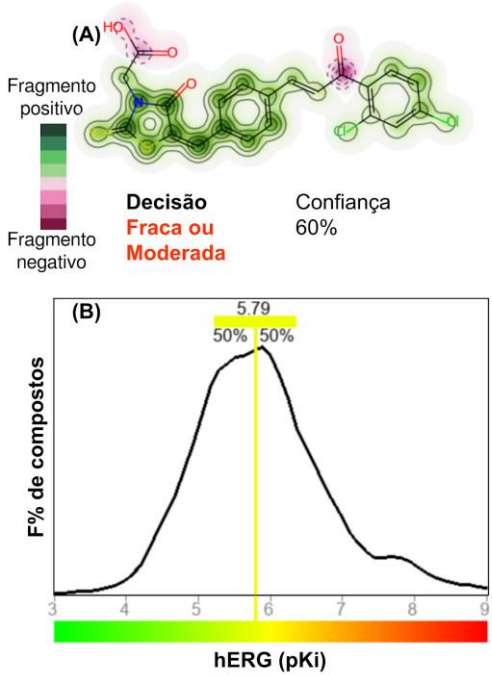


Figura 6. Predição do efeito cardiotóxico da 3RCHAL, incluindo análise estrutural (A) e coeficiente de afinidade com canais hERG (B).

Estimativa de efeito cardiotóxico

Um dos pontos finais de toxicidade que podem ser estimados com base na estrutura química diz respeito ao modelo de predição de inibição da canais hERG, um canal de transporte de cátions K^+ no sistema cardiovascular (Cavalluzzi et al., 2020). Uma base de dados de subestruturas tóxicas (Radchenko et al., 2017) foi utilizada para estimar o efeito cardiotóxico da 3RCHAL, onde foi possível notar que a maioria das contribuições estruturais positivas (cor verde), no mapa de probabilidade da Figura 6a, representam interações hidrofóbicas com o canal, embora os grupos carbonila e carboxila apresentem contribuições estruturais negativas (cor magenta). No entanto, a constante de afinidade (pKi) na ordem de 5.79 sugere que a administração oral da chalcona conta com uma baixa incidência de inibição dos canais hERG, indicando uma baixa resposta cardiotóxica ao hospedeiro (Figura 6b).

CONCLUSÃO

A combinação de softwares e serviços disponíveis constituem o ponto chave deste trabalho, constituindo bases de dados que foram capazes de estimar o perfil farmacológico da dicloro-chalcona baseada em ácido-3-rodaninacético, caracterizada em estudos anteriores como um forte inibidor enzimático. Os resultados sugerem que a base conjugada da substância (3RCHAL) constitui uma entidade química com ótima biodisponibilidade oral para suas interações biológicas, estimada frente aos alvos de colagenase codificados pelos genes MMP3 e MMP13, mostrando uma efetividade farmacológica promissora para o tratamento da artrite reumatóide com risco tóxico mínimo. No entanto, sugere-se uma sucessão de testes in vitro e in vivo para sua comprovação.

AGRADECIMENTOS

A realização deste trabalho foi possível graças ao financiamento da Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (Funcap) e pela Pró-Reitoria de Extensão da Universidade Estadual do Ceará (PROEX-UECE).

REFERÊNCIAS

Cavalluzzi, M. M., Imbrici, P., Gualdani, R., Stefanachi, A., Mangiatordi, G. F., Lentini, G., & Nicolotti, O. (2020). Human ether-à-go-go-related potassium channel: exploring SAR to improve drug design. Drug Discovery Today, 25(2), 344–366.

Chen, Z. H., Zheng, C. J., Sun, L. P., & Piao, H. R. (2010). Synthesis of new chalcone derivatives containing a rhodanine-3-acetic acid moiety with potential anti-bacterial activity. European Journal of Medicinal Chemistry, 45(12), 5739–5743.

Gfeller, D., Grosdidier, A., Wirth, M., Daina, A., Michielin, O., & Zoete, V. (2014). SwissTargetPrediction: a web server for target prediction of bioactive small molecules. Nucleic Acids Research, 42(1), 32-38.

Jeon M-G, Cheon Y-H, Lim H-S, et al (2017) Suppressive Effects of TSAHC in an Experimental Mouse Model and Fibroblast-Like Synoviocytes of Rheumatoid Arthritis. Inflammation 40:1825–1835.

Johnson, T. W., Dress, K. R., & Edwards, M. (2009). Using the Golden Triangle to optimize clearance and oral absorption. Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters, 19(19), 5560–5564.

K. A. Ferreira M, O. S. Fontenelle R, E. A. Magalhães F, et al (2018) Chalcones Pharmacological Potential: A Brief Review. Revista Virtual de Química 10:1455–1473.

Lima, J. dos R., Ferreira, M. K. A., Sales, K. V. B., da Silva, A. W., Marinho, E. M., Magalhães, F. E. A., Marinho, E. S., Marinho, M. M., da Rocha, M. N., Bandeira, P. N., Teixeira, A. M. R., de Menezes, J. E. S. A., & dos Santos, H. S. (2021). Diterpene Sonderianin isolated from Croton blanchetianus exhibits acetylcholinesterase inhibitory action and anxiolytic effect in adult zebrafish (Danio rerio) by 5-HT system. Journal of Biomolecular Structure and Dynamics, 1–16.

Lyne PD (2002) Structure-based virtual screening: an overview. Drug Discovery Today 7:1047–1055.

Martin, Y. C. (2005). A Bioavailability Score. Journal of Medicinal Chemistry, 48(9), 3164–3170.

M. Nassar E, M. Abdelrazek F, R. Ayyad R, F. El-Farargy A (2016) Synthesis and Some Reactions of 1-aryl-4-acetyl-5-methyl-1,2,3-triazole Derivatives with Anticonvulsant Activity. Mini-Reviews in Medicinal Chemistry 16:926–936.

Mohamad AS, Akhtar MN, Zakaria ZA, et al (2010) Antinociceptive activity of a synthetic chalcone, flavokawin B on chemical and thermal models of nociception in mice. European Journal of Pharmacology 647:103–109.

NEGREI C, BOJINCA V, BALANESCU A, et al (2016) Management of rheumatoid arthritis: Impact and risks of various therapeutic approaches. Experimental and Therapeutic Medicine 11:1177–1183.

Negri G (2005) Diabetes melito: plantas e princípios ativos naturais hipoglicemiantes. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas 41:121–142.

Özdemir A, Altıntop MD, Turan-Zitouni G, et al (2015) Synthesis and evaluation of new indole-based chalcones as potential antiinflammatory agents. European Journal of Medicinal Chemistry 89:.

Radchenko, E. V., Rulev, Y. A., Safanyaev, A. Y., Palyulin, V. A., & Zefirov, N. S. (2017). Computer-aided estimation of the hERG-mediated cardiotoxicity risk of potential drug components. Doklady Biochemistry and Biophysics, 473(1), 128–131.

Rocha, M. N., Campos, O. S., Marinho, M. M., & Marinho, E. S. (2019). Theoretical Study of Gibberellic Acid: Conformational Characterization, Electronic and ADME. Revista Expressão Católica Saúde, 4(2), 79–90.

Tomasic T, Masic L (2009) Rhodanine as a Privileged Scaffold in Drug Discovery. Current Medicinal Chemistry 16:1596–1629.

Vanangamudi G, Subramanian M, Thirunarayanan G (2017) Synthesis, spectral linearity, antimicrobial, antioxidant and insect antifeedant activities of some 2,5-dimethyl-3-thienyl chalcones. Arabian Journal of Chemistry 10:.

Wager, T. T., Hou, X., Verhoest, P. R., & Villalobos, A. (2016). Central Nervous System Multiparameter Optimization Desirability: Application in Drug Discovery. ACS Chemical Neuroscience, 7(6), 767–775.

Wu, Z., Lei, T., Shen, C., Wang, Z., Cao, D., & Hou, T. (2019). ADMET Evaluation in Drug Discovery. 19. Reliable Prediction of Human Cytochrome P450 Inhibition Using Artificial Intelligence Approaches. Journal of Chemical Information and Modeling, 59(11), 4587–4601. https://doi.org/10.1021/acs.jcim.9b00801

Yu, K., Geng, X., Chen, M., Zhang, J., Wang, B., Ilic, K., & Tong, W. (2014). High daily dose and being a substrate of cytochrome P450 enzymes are two important predictors of drug-induced liver injury. Drug Metabolism and Disposition, 42(4), 744–750.

Zheng, M., Luo, X., Shen, Q., Wang, Y., Du, Y., Zhu, W., & Jiang, H. (2009). Site of metabolism prediction for six biotransformations mediated by cytochromes P450. Bioinformatics, 25(10), 1251–1258.