



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO – UFMA
CENTRO DE CIÊNCIAS DE SÃO BERNARDO – CCSB
LICENCIATURA EM CIÊNCIAS NATURAIS/QUÍMICA

CASSIO SILVA SOUSA

**POTENCIAL DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DE *Pterodon emarginatus* NA
INIBIÇÃO DAS PROTEÍNAS DE ENTRADA CELULAR DO SARS-COV-2: um
estudo computacional**

SÃO BERNARDO – MA

2023

CASSIO SILVA SOUSA

**POTENCIAL DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DE *Pterodon emarginatus* NA
INIBIÇÃO DAS PROTEÍNAS DE ENTRADA CELULAR DO SARS-COV-2: um
estudo computacional**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Licenciatura em Ciências Naturais/ Química, da Universidade Federal do Maranhão, Centro de Ciências São Bernardo, como requisito para obtenção do título de Licenciado em Ciências Naturais/Química.

Orientador: Prof. Dr. Jefferson Almeida Rocha

SÃO BERNARDO – MA

2023

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Diretoria Integrada de Bibliotecas/UFMA

Silva Sousa, Cássio.

POTENCIAL DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DE *Pterodon emarginatus* NA INIBIÇÃO DAS PROTEÍNAS DE ENTRADA CELULAR DO SARS-COV-2: um estudo computacional / Cássio Silva Sousa. - 2023.

47 p.

Orientador(a): Jefferson Almeida Rocha.

Monografia (Graduação) - Curso de Ciências Naturais - Química, Universidade Federal do Maranhão, Sala virtual Google Meet, 2023.

1. Compostos orgânicos. 2. Coronavírus. 3. Proteínas. I. Almeida Rocha, Jefferson. II. Título.

CASSIO SILVA SOUSA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Licenciatura em Ciências Naturais/ Química, da Universidade Federal do Maranhão, Centro de Ciências São Bernardo, como requisito para obtenção do título de Licenciado em Ciências Naturais/Química.

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado em: 28/12/2023

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Jefferson Almeida Rocha (Orientador)

Universidade Federal do Maranhão – UFMA

Email: ja.rocha@ufma.br

Prof. Me. Mery Jouse de Almeida Holanda (Membro 01)

Universidade Federal do Maranhão – UFMA

Mery.jouse@ufma.br

Prof. Dr. Rosa Maria Pimentel Cantanhede (Membro 02)

Universidade Federal do Maranhão – UFMA

rosa.mpc@ufma.br

AGRADECIMENTOS

Neste momento tão especial que está se encerrando, agradeço primeiramente a Deus por mais uma conquista em minha vida, por nunca ter me feito desistir dos desafios que apareceram em meu caminho, e por ter me dado forças para percorrer todos os dias da minha casa até a universidade, agradeço por mais um objetivo alcançado de muitos que virão pela frente.

Agradeço minha família em especial minha mãe Maria dos Santos e meu pai Edilson Portugal por sempre estar ao meu lado nos momentos mais difíceis que passei na graduação, por sempre me apoiar e me orientar em minhas decisões, pois sem eles, eu não teria chegado tão longe. Meus agradecimentos também vão para todos os integrantes do grupo de pesquisa Quimebio, ao técnico do laboratório Arthur Cerejo por sempre estar disponível para ajudar.

Para finalizar, agradeço ao Professor Jefferson Almeida Rocha, foi um dos motivadores para eu poder chegar até aqui, foi o responsável por proporcionar novas experiências, conhecimento e aprendizado, e por estar me motivando em continuar me qualificando dentro das pesquisas.

RESUMO: O emprego de plantas com fins medicinais é uma das mais antigas formas para tratamento, cura, e prevenção de doenças, ela é a principal ou única matéria prima para elaboração de medicamentos, sendo alvo de estudos para ações farmacológicas contra o novo coronavírus (SARSCoV-2). Entre essas espécies naturais destacamos a *Pterodon emarginatus*, conhecida popularmente como sucupira. Com a pesquisa, temos como objetivo realizar um estudo computacional sobre o potencial dos constituintes químicos de *Pterodon emarginatus* na inibição das proteínas de entrada celular dos SARS-CoV-2. Quanto a metodologia, é realizada através da seleção de compostos orgânicos e constituintes químicos da *P. emarginatus* com a plataforma PubChem, e a retirada das proteínas do coronavírus (6vxx, 6lu7, 1R42n, Receptor5) do banco de dados PDB. A docagem molecular consiste no uso dos programas Autodock Tools 1.5.6, e a obtenção do cálculo através do Autodock Vina. A otimização dos compostos é calculada no programa Gaussian 09, e o LigPlus na obtenção dos aminoácidos por ligações de hidrogênio. Para a obtenção da estrutura em 3D das proteínas e ligantes utilizamos o programa Chimera v. 13.1. o mesmo responsável pela remoção de todas as moléculas de água e íons da proteína. Foram usados 44 compostos, com quatro proteínas dando um total de 176 docagens, sendo o melhor resultado obtido do composto Acetoxylvouacapane encontrada no óleo das sementes, com uma energia de ligação -9.6 Kcal/mol e Lupeol encontrado na casca com energia de -9.1Kcal/mol. Os óleos essenciais da planta possuem efeitos inibidores que são caracterizados pela presença de substâncias terpenóides; podem ser explorados para a obtenção de compostos bioativos, buscando novos caminhos para o controle e tratamento de diversas doenças.

Palavra Chave: coronavírus; compostos orgânicos; proteínas.

ABSTRACT: The use of plants for medicinal purposes is one of the oldest forms of treatment, cure, and prevention of diseases, being the main or only raw material for the preparation of medicines, being the target of studies for pharmacological actions against the new coronavirus (SARSCoV -two). Among these natural species we highlight *Pterodon emarginatus*, popularly known as *sucupira*. Aiming to carry out a computational study on the potential of the chemical constituents of *Pterodon emarginatus* in inhibiting SARS-CoV-2 cellular entry proteins. The methodology is carried out through the selection of organic compounds and chemical constituents of *P. emarginatus* with the PubChem platform, and the removal of coronavirus proteins (6vxx, 6lu7, 1R42n, Receptor5) from the PDB database. Molecular docking consists of using the Autodock Tools 1.5.6 programs and obtaining the calculation through Autodock Vina. Compound optimization is calculated using the Gaussian 09 program, and LigPlus is used to obtain amino acids through hydrogen bonds. To obtain the 3D structure of proteins and ligands, we used the Chimera v program. 13.1. the same responsible for removing all water molecules and ions from the protein. 44 compounds were used, with four proteins giving a total of 176 dockings, with the best result obtained from the compound Acetoxycoumarone found in the seed oil, with a binding energy of -9.6 Kcal/mol and Lupeol found in the peel with an energy of -9.1Kcal /mol. The plant's essential oils have inhibitory effects that are characterized by the presence of terpenoid substances; can be explored to obtain bioactive compounds, seeking new ways to control and treat various diseases.

Keyword: Coronavirus. Organic compounds. Proteins

LISTA DE FIGURAS

Figura 01: Estrutura viral simplificada do SARS-CoV-2	15
Figura 02: compostos químicos identificados nas folhas, cascas, e outras partes da planta sucupira (<i>P. emarginatus</i>).	26
Figura 03: Complexo Acetoxycoumarone com a proteína Spike. (A) estrutura tridimensional entre a proteína (verde, azul) e ligante (vermelho). (B) Diagrama LigPlot+ das ligações hidrofóbicas (vermelho).....	31
Figura 04: Ligação da proteína Spike do SARS-CoV2 às células epiteliais nasais e pulmonares. Os bastões vermelhos e rosa são os resíduos na estrutura da enzima conversora de angiotensina-2 (ACE2). Os bastões azuis são os resíduos nas proteínas CoV Spike.....	32
Figura 05: região S1 e S2 da estrutura viral da proteína Spike	33
Figura 06: Complexo Lupeol com a proteína ECA2. (A) estrutura tridimensional entre a proteína (laranja) e ligante (azul). (B) Ampliação da região de encaixe. (C) Diagrama LigPlot+ da interação: pontes de hidrogênio (verde) e ligações hidrofóbicas (vermelho).....	34
Figura 07: Complexo Elatin flavonoid com sítio de interação Spike(verde)/ECA2 (roxo) (RBD). (A) estrutura tridimensional entre a proteína e ligante (azul). (B) Ampliação da região de encaixe. (C) Diagrama LigPlot+ da interação: pontes de hidrogênio (verde) e ligações hidrofóbicas (vermelho).....	35
Figura 08: Complexo Elatin flavonoid com a proteína MPro. (A) estrutura tridimensional entre a proteína (roxa) e ligante (verde). (B) Ampliação da região de encaixe. (C) Diagrama LigPlot+ da interação: pontes de hidrogênio (verde) e ligações hidrofóbicas (vermelho).....	37

LISTA DE TABELAS

Tabela 01: parâmetros de afinidade molecular realizados através do método vina em ΔG_{bind} (kcal/mol-1) entre os constituintes químicos da planta <i>P. emarginatus</i> com as proteínas Spike, Mpro, Receptor3 (RBD) do novo coronavírus Covid-19 e ACE2.....	25
Tabela 02: Constituintes com melhores resultados ligante/proteína por ligações de hidrogênio e interação hidrofóbica.	29
Tabela 03: propriedades de absorção dos compostos da planta <i>P. emarginatus</i> que obtiveram melhor resultado durante o processo de docagem molecular.	38
Tabela 04: Propriedades de toxicidade dos dos compostos da planta <i>P. emarginatus</i> que obtiveram melhor resultado durante o processo de docagem molecular.	39
Tabela 1.1: Os dados adquiridos através da biblioteca PubChem estão descritas com seus compostos traduzidos do inglês para o português com seus parâmetros de afinidade molecular realizados através do método vina em ΔG_{bind} (kcal/mol-1) entre os constituintes químicos da planta <i>P. emarginatus</i> e proteínas virais.....	47

SUMARIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. OBJETIVOS	13
2.1 Objetivo geral	13
2.2 Objetivos específicos	13
3. REFERENCIAL TEÓRICO	14
3.1 O SARS-CoV-2/covid-19	14
3.1.1 Coronavirus	14
3.1.2 Evolução	15
3.1.3 Transmissão	16
3.1.4 Replicação	17
3.2 Plantas medicinais	18
3.2.1 <i>Pterodon emarginatus</i>	19
3.3 Triagem virtual/ docagem molecular	21
4. MATERIAIS E METODOS	23
4.1 Seleção dos ligantes de <i>Pterodon emarginatus</i>	23
4.2 Determinação do sítio ativo	23
4.3 Docagem molecular	23
4.4 Predição ADME-TOX	24
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	25
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	40
7. REFERÊNCIAS	41
APÊNDICE	46

1. INTRODUÇÃO

O SARS-CoV 2 causador da COVID-19 surgida inicialmente na China se espalhou pelo mundo gerando milhares de casos e mortes (ROTHAN; BYRAREDDY, 2020). Até o momento (7 de maio de 2021) foram registrados 155.665,214 casos confirmados 3.250,648 mortes, e no Brasil há 14.930,183 casos e 414.399 mortes (WHO, 2021).

Os números elevados da COVID-19 estão relacionados à transmissibilidade e a patogêneses do vírus. Podendo ser transmitido por partículas aéreas ou por contato direto, porém o distanciamento social e o uso de máscaras podem diminuir a transmissão (BAI, et al., 2020; WANG; TANG; WEI, 2020; GARCIA et al., 2020).

Por se tratar de um novo vírus, que até então, era desconhecido pela comunidade científica, buscar uma terapêutica promissora tornou-se prioridade, assim, a utilização de métodos computacionais é essencial para descobrir rapidamente compostos que inibam a porta de entrada do vírus na célula que é a proteína Spike (S) do SARS-CoV-2 e a ligação na proteína conversora de angiotensina (ECA2).

Assim, os produtos naturais tem sido alvo de estudos para ação farmacológica contra o novo coronavírus, entre essas espécies naturais destacamos a *Pterodon emarginatus*, conhecida popularmente como sucupira, apresentando uma rica ação medicinal, sendo utilizada para o tratamento de reumatismo, dores de garganta, disfunções respiratórias (bronquites e amidalites), além das suas atividades anti-inflamatórias, analgésica, depurativa, tônica, cicatrizantes, e no tratamento de faringites, amidalites e bronquites em humanos (FERREIRA et al., 2014; DUTRA et al., 2009; HERNANDEZ-TERRONES et al., 2007).

Pterodon emarginatus pertence à família Fabaceae (Leguminosae), subfamília Faboideae (LORENZI 2008). Estudos fitoquímicos do gênero *Pterodon* têm demonstrado a presença de alcaloides nas cascas das arvores (TORRENEGRA et al., 1989), isoflavonas e alguns triterpenos (MARQUES et al., 1998) na madeira (FASCIO et al., 1976; ARRIAGA et al., 2000), e diterpenos, epoxigeranilgeraniol e alguns derivados isolados de *P. pubescens* tem sido associado com uma atividade protetora contra a penetração de cercarias de *schistosoma mansoni*, principal vetor da esquistossomose (DOS SANTOS FILHO Et al., 1972), e isoflavonas no óleo das sementes (BRAZ-FILHO & GOTTLIEB, 1971).

O emprego de plantas com fins medicinais para tratamento, cura, e prevenção de doenças é uma das mais antigas formas de pratica medicinal da humanidade, sendo ela a principal ou a única matéria prima para elaboração de medicamentos. Deste modo, o

planejamento racional de fármacos consiste em estratégias de planejamento fundamentadas na fisiopatologia das doenças, no estudo de vias bioquímicas e na seleção de alvos moleculares (SILVA et al., 2020).

O conhecimento das estruturas de alvos macromoleculares ou das interações entre ligante-receptor permite a aplicação dessas estratégias de planejamento racional de fármacos, pois ajuda a obter e analisar as propriedades e características dos ligantes bioativos de interesse (GUIDO; ANDRICOPULO; OLIVA, 2010).

Devido aos grandes avanços computacionais, das técnicas e dos algoritmos de simulações, e da crescente diminuição do custo computacional e aumento no desempenho e confiabilidade dos programas e recursos, a Modelagem Molecular vem sendo cada vez mais utilizada em diversos processos biológicos, em especial, no desenvolvimento e planejamento de fármacos (SILVA et al., 2020).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Triagem virtual de compostos orgânicos de *Pterodon emarginatus* como possíveis inibidores das proteínas de infecção por SARS-CoV-2.

2.2 Objetivos específicos

- Selecionar os ligantes de *Pterodon emarginatus*;
- Seleção das proteínas do SARS-CoV-2
- Testar por meio de docagem molecular as moléculas e proteínas selecionadas;
- Obtenção das energias de interações moleculares por meio de figuras tridimensionais;
- Estudar farmacocinético por ADME-TOX;

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 O SARS-CoV-2/ covid-19

3.1.1 *Coronavirus*

Os coronavírus (CoVs) pertencem à ordem Nidovirales, família Coronaviridae e subfamília Coronavirinae, e infectam ampla gama de hospedeiros. De acordo com as relações genéticas e filogenéticas entre seus membros,

esta subfamília é dividida em quatro gêneros: alfa (D), beta (E), gama (J) e delta (G). Os membros dos gêneros D e E infectam mamíferos, ao passo que os membros dos gêneros J e G infectam principalmente pássaros e, adicionalmente, alguns mamíferos (Cui, Li & Shui, 2019).

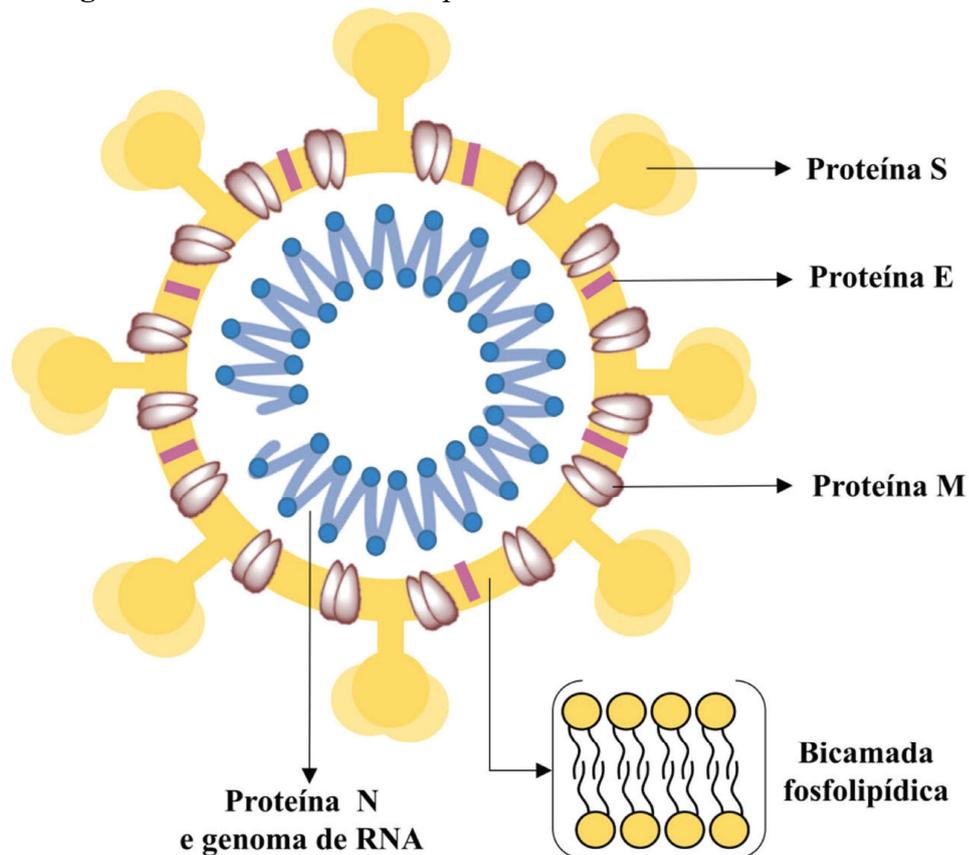
Atualmente, os CoVs que infectam humanos e causam infecções respiratórias leves são dois D-CoVs (229E e NL63) e E-CoVs (OC43 e HKU1). Ocasionalmente, essas infecções podem evoluir para casos graves. Adicionalmente, três distintos E-CoVs, que causam infecções altamente patogênicas em humanos surgiram nas últimas duas décadas, incluindo o primeiramente identificado CoV da síndrome respiratória aguda grave (Sars-CoV), o CoV da síndrome respiratória do Oriente Médio (Mers-CoV) e o mais recentemente descrito Sars-CoV-2, causador da pandemia de Covid-19.

O Sars-CoV-2 pertence ao subgênero Sarbecovírus, assim como os Sars-CoV e Mers-CoV. O Sars-CoV-2, porém, foi identificado como um vírus distinto com base na baixa identidade genética com esses outros vírus altamente patogênicos.

Com base na filogenia e taxonomia, o SARS-CoV-2 foi classificado pelo Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus (ICTV) – do inglês International Committee on Taxonomy of Viruses – como um vírus da espécie Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus (SARSr-CoV), pertencente ao gênero Betacoronavirus, subfamília Coronavirinae, família Coronaviridae, ordem Nidovirales, reino Riboviria. (GORBALENYA et al., 2020).

O genoma do SARS-CoV-2 consiste em uma única fita de RNA positivo de aproximadamente 29,9 kb de comprimento. Seu genoma codifica quatro proteínas estruturais, a do nucleocapsídeo (N), proteína do envelope (E), glicoproteína de superfície (S) e proteína de membrana (M) (OPAS, 2022).

Figura 01: Estrutura viral simplificada do SARS-CoV-2



Fonte: Scielo, 2020

Quanto ao processo de infecção, a invasão da célula pelo SARS-CoV-2 ocorre a partir da ligação da proteína S com um receptor enzimático, a enzima conversora de angiotensina 2 (ACE2) na superfície da célula humana.

O vírus então se funde à membrana e libera seu material genético (RNA viral) no interior da célula que, uma vez infectada, começa a fabricar proteínas que auxiliarão na produção de cópias do vírus. Cada célula infectada é capaz de produzir milhões de novas partículas virais, que uma vez liberadas no organismo do hospedeiro, irão infectar outras células sadias.

3.1.2 Evolução

Até meados do ano de 2002, os coronavírus humanos eram conhecidos apenas por causarem infecções respiratórias brandas, com quadros semelhantes ao resfriado comum, sem grande relevância para a saúde pública. No entanto, ao final daquele ano, uma nova espécie de coronavírus emergiu causando um surto de síndrome respiratória aguda grave, associada à pneumonia, à falência respiratória e a óbitos na província de Guangdong, na China.

Os CoVs dos gêneros D e E evoluem a partir de morcegos, e os J e G de pássaros e suínos (Cheng et al., 2007; Woo et al., 2012). Os morcegos também são considerados os hospedeiros naturais para progenitores de CoVs altamente patogênicos em humanos, como Sars-CoV e Mers-CoV (Perlman, 2020) e os reservatórios dos CoVs 229E e NL63 (Graham, Donaldson & Baric, 2013). Previamente à infecção humana, há o envolvimento de hospedeiros animais intermediários, que então transmitem os CoVs para o hospedeiro humano.

A emergência do SARS-CoV foi associada a mutações surgidas em um coronavírus de morcego, o animal reservatório natural da maioria dos coronavírus (CORMAN et al., 2018; LI et al., 2005). As mutações acumuladas no genoma do SARS-CoV levaram a substituições de aminoácidos em sua proteína de superfície viral que resultaram no aumento da afinidade de ligação desta com o receptor ACE2 humano (WALLS et al., 2020).

Conseqüentemente, o vírus adquiriu maior capacidade de infectar células humanas, tornando-se mais virulento e adaptado à transmissão pessoa-pessoa, causando entre 2002 e 2004 a primeira epidemia de coronavírus de relevância para saúde pública.

Em 31 de dezembro de 2019 as autoridades de saúde chinesas relataram para a Organização Mundial da Saúde (OMS) uma epidemia de casos com infecções respiratórias baixas detectada em Wuhan, a maior área metropolitana da província de Hubei, iniciada no início do mesmo mês.

A etiologia dessa doença é agora atribuída a um novo vírus pertencente à família dos coronavírus (CoV), denominado Sars-Cov-2. Em 11 de fevereiro de 2020, o diretor-geral da OMS, dr. Tedros Adhanom Ghebreyesus, anunciou que a doença causada por esse novo CoV seria denominada Covid-19, sigla de “doença por coronavírus 2019” (Casella et al., 2020).

3.1.3 Transmissão

Em relação aos primeiros casos de COVID-19 em humanos, suspeita-se que o contato direto com animais hospedeiros intermediários ou o consumo de animais selvagens tenham sido a principal via de transmissão de SARS-CoV-2. (CORMAN et al., 2018; ZHANG; HOLMES, 2020) No entanto, a(s) fonte(s) e rotas de transmissão do SARS-CoV-2 entre hospedeiros primários, intermediários e o homem ainda apresentam lacunas.

SARS-CoV-2 (um air-borne virus) é transmitido primariamente de uma pessoa infectada – seja sintomática, pré-sintomática ou assintomática – a outra, através de partículas virais contidas em gotículas orais ou nasais, expelidas durante espirros, tosse ou fala. (ARONS et al., 2020; CORMAN et al., 2018; GANDHI; YOKOE; HAVLIR, 2020).

As partículas virais podem ficar suspensas no ar por algum tempo, dependendo de vários fatores como confinamento do ambiente, umidade relativa do ar e carga viral, ou se depositarem em superfícies que estejam no entorno, como pisos e objetos. No caso de partículas virais suspensas, a contaminação se dá pela inalação e, no caso das partículas depositadas, através de manuseio das superfícies contaminadas e posterior contato com os olhos e a boca.

Estudos em laboratório mostram que partículas de SARS-CoV-2 podem se manter viáveis por períodos que variam de minutos a horas, dependendo do tipo de superfície e da carga viral depositada sobre elas. (VAN DOREMALEN et al., 2020).

A possível transmissão fecal também tem sido discutida devido à alta carga de RNA de SARS-CoV-2 detectada por RT-PCR nas fezes de pacientes, inclusive por tempos excedentes ao período de viremia em amostras coletadas a partir do trato respiratório. (DING; LIANG, 2020) No entanto, partículas virais infecciosas não foram isoladas a partir deste tipo de amostras e, portanto, esta via de transmissão não está estabelecida. (WÖLFEL et al., 2020)

3.1.4 Replicação

A replicação dos coronavírus inicia-se na etapa de adsorção, quando a região RBD da subunidade S1 da glicoproteína viral S interage com receptores de membrana da célula hospedeira. (FEHR; PERLMAN, 2015). Notavelmente, a região RBD da glicoproteína S de SARS-CoV-2 possui uma afinidade entre 10 e 20 vezes maior com o receptor ACE2 que a de SARS-CoV (WRAPP et al., 2020), o que pode contribuir para a maior disseminação de SARS-CoV-2 quando comparado à SARS-CoV.

Em humanos, o receptor ACE2 é amplamente expresso em células epiteliais dos alvéolos pulmonares, em enterócitos do intestino delgado, em células endoteliais venosas e arteriais (HAMMING et al., 2004) e em células da mucosa oral (XU et al., 2020), o que embasa o entendimento sobre aspectos da patogênese dos referidos vírus, assim como sobre as diferenças individuais de suscetibilidade à infecção, como aquelas resultantes de polimorfismos de ACE2.

Após a adsorção da partícula viral à célula-alvo, ocorre a clivagem da glicoproteína S de SARS-CoV-2, entre as subunidades S1 e S2, através da ação de proteases celulares; etapa crucial para entrada do vírus na célula. Isso porque, com a proteólise, há exposição do peptídeo de fusão, que mediará a fusão do envelope viral com a membrana celular (HEALD-SARGENT; GALLAGHER, 2012).

O SARS-CoV-2 liga-se ao receptor ACE2 da célula-alvo, o que permite a fusão da membrana plasmática com o envelope viral e desnudamento do RNA genômico. Alternativamente, o vírus pode entrar na célula via endocitose. As poliproteínas pp1a e pp1ab são então traduzidas e clivadas, havendo formação do complexo replicase-transcriptase e favorecimento da síntese dos RNAs genômico e subgenômico virais.

As proteínas estruturais M, E e S são traduzidas e seguem para o Ergic, onde, juntamente com o RNA genômico associado à proteína N, vão formar vários maduros que serão excitados.

3.2 *Plantas medicinais*

As plantas formam um rico arsenal de produtos químicos, orgânicos e inorgânicos, com diferentes potenciais para exploração pelo homem. Muitas vezes são utilizadas como terapia complementar a tratamentos instituídos, por influência de práticas milenares ou por indicação de familiares/pessoas próximas ao longo de gerações (MACHADO et al., 2014; JÜTTE et al., 2017; SZERWIESKI et al., 2017; WEGENER, 2017; DIAS et al., 2018).

A segurança e a eficácia na utilização de uma planta medicinal dependem da identificação correta da planta, conhecimento de qual parte deve ser usada, modo de preparo, forma de uso e dose apropriada, que agregam saberes do uso popular consolidado e evidências reveladas por estudos científicos (COLET et al., 2015).

O desenvolvimento natural da ciência e das tecnologias em saúde possibilitaram que as plantas medicinais tivessem seu valor terapêutico reconhecido. Assim, atualmente são de interesse e amplamente pesquisadas por profissionais das mais variadas áreas, além de que seu uso é recomendado e assistido por profissionais de saúde com diferentes formações (LORENZI; MATOS, 2002).

No entanto, a utilização de plantas também pode levar à ocorrência de efeitos adversos, seja pelo seu uso isolado, de modo inadequado, uso crônico ou em associação com medicamentos convencionais ou mesmo com outras plantas e fitoterápicos (VEIGA JUNIOR; PINTO; MACIEL, 2005; MACHADO et al., 2014; ENIOUTINA et al., 2017).

Dessa forma, pesquisas sobre os benefícios e riscos no uso de plantas medicinais, dentre outras finalidades, constituem estratégias de contribuir com evidências para ações de educação e promoção da saúde (BRASIL, 2016), dentre outras áreas, como incentivo ao planejamento do desenvolvimento sustentável, de novos medicamentos e da indústria farmacêutica.

A partir de produtos naturais, são isoladas moléculas que servem como protótipo para o delineamento e planejamento de novos fármacos, mas também para a investigação de novas

ações terapêuticas (RATES, 2001). Além disso, as plantas medicinais, como fontes de moléculas promissoras para o desenvolvimento de medicamentos, possuem menor custo quando comparado às pesquisas com moléculas sintéticas (IANCK et al., 2017).

3.2.1 *Pterodom emarginatus*



Planta florida

Fonte: Lewis *et al.* 2005



Folha composta, oposta, paripinada

Fonte: Lewis *et al.* 2005



ápice retuso, inflorescência em botão, Folíolo oblongo, base cuneada, Inflorescência em panícula, flores rosa, estandarte reflexo

Fonte: Lewis *et al.* 2005



Fruto sâmara, núcleo seminífero central

Fonte: Lewis *et al.* 2005

Com o desenvolvimento da ciência e da tecnologia, um maior número de plantas medicinais está tendo seu valor terapêutico pesquisado, resultando em maior número de compostos naturais, conhecidos como metabólitos secundários (VEIGA JÚNIOR; PINTO, 2005; LÓPEZ, 2006).

Em meio ao grande número de espécies de plantas com propriedades terapêuticas encontrasse a sucupira-branca, identificada botanicamente como *Pterodon emarginatus* e conhecida também como fava-de-santo-inácio (DUARTE, 2006; NEVES *et al.*, 2007).

Esta planta pertence à família Fabaceae e pode ser encontrada em todo cerrado brasileiro e em áreas de transição. Todas as partes da planta são utilizadas na medicina popular, desde a raiz até as folhas, sob a forma de infusão e decocção, tendo como principais usos: no tratamento da diabetes, do reumatismo, e como anti-inflamatório. Várias pesquisas

sobre a atividade biológica da *P. emarginatus* vêm sendo desenvolvidas recentemente (PAULA et al., 2005; MORAES et al., 2009; SANTOS et al., 2010; GALCERAN et al., 2011).

Pela utilização popular brasileira, os extratos alcoólicos feitos, a partir, das sementes de *P. emarginatus* são usados como anti-reumático, antiinflamatório, problemas de coluna, depurativo e fortificante. Os frutos são usados para o tratamento de dores musculares, torções, artrite e artrose, apresentando ação antiinflamatória e analgésica (Mors et al., 1967).

Na região Centro-oeste, a população utiliza o chá das cascas do caule para infecções ginecológicas (Almeida & Gottlieb, 1975). O óleo dos frutos de *P. emarginatus* é aromático sendo usado também no combate ao reumatismo e diabetes.

Carvalho (1998), a partir do extrato bruto dos frutos de *P. emarginatus*, verificou a atividade antiinflamatória desta espécie, atribuindo esta ação à presença de compostos terpênicos. Outros estudos mostram a ação protetora do extrato hexânico bruto dos frutos de *P. emarginatus* frente ao stress oxidativo e nitrosativo induzido por exercícios agudos em ratos (Paula et al., 2005).

No extrato hexânico foram caracterizados ácidos graxos, sesquiterpenos (α -cariofileno, β -cariofileno, mirceno, α -pineno, farneseno) e diterpenos tricíclicos furânicos com o isolamento do $6\alpha,7\beta$ -diacetoxivouacapan-17 β -oato de metila (Teixeira, 2003). Em estudos recentes realizados por Moraes (2007), foram isolados os triterpenos lupeol e betulina das frações hexânica e diclorometânica respectivamente, obtidas a partir do extrato etanólico bruto das cascas do caule, neste trabalho ainda foi verificada atividade antiinflamatória e antinociceptiva do referido extrato.

A avaliação da atividade antimicrobiana dos extratos da casca foi realizada em bactérias patogênicas e na avaliação farmacognóstica detectou-se a presença de flavonoides, heterosídeos saponínicos, resinas, traços de esteróides e triterpenóides (Bustamante et al., 2005).

3.3. *Triagem virtual (docagem molecular)*

O Docking Molecular, ou docagem molecular, foi introduzido no início da década de 1980 e, desde então, tem contribuído tanto na fase de descoberta de novas moléculas bioativas quanto na otimização de compostos bioativos já conhecidos, melhorando características como potência e afinidade, propriedades farmacocinéticas, etc. (GUIDO; ANDRICOPULO, 2008).

A Modelagem Molecular consiste em um conjunto de ferramentas para a construção, edição e visualização, análise e armazenamento de sistemas moleculares complexos, podendo

ser utilizada em estratégias de modelagem direta e indireta de novos fármacos (BARREIRO et al., 1997). Dessa forma, esses métodos conseguem simular com grande eficácia a interação entre um ligante-proteína, tornando possível a obtenção de resultados da relação quantitativa da estrutura e sua atividade biológica (SANT'ANNA, 2009).

Esse é um dos métodos computacionais mais frequentemente utilizados em SBDD devido à sua capacidade de prever, com um grau substancial de precisão, a conformação de ligantes de moléculas pequenas no local de ligação do alvo apropriado (FERREIRA et al., 2015).

O algoritmo utilizado nos programas de modelagem realiza essas tarefas de explorar o espaço configuracional e de avaliar a energia de interação através de um processo cíclico, no qual a conformação do ligante é avaliada por funções de pontuação específicas (MAGALHÃES; DARDENNE, 2014). Este processo é realizado até convergir para uma solução de energia mínima, ou seja, até ocorrer a minimização de energia do sistema (PAGADALA; SYED, 2017; YURIEV; ADOSTINO; RAMSLAND, 2011).

O Docking Molecular possibilita a investigação dos modos de ligação e as interações intermoleculares e energias correspondentes que estabilizam o complexo ligante-receptor. Uma das principais características no processo de Docking é a capacidade de simular diversos modos de ligação observados experimentalmente através das conformações aplicadas (YURIEV; ADOSTINO; RAMSLAND, 2011).

Também pode ser utilizado na triagem virtual de ligantes (Virtual Screening), sendo este um método indispensável para auxiliar na descoberta de medicamentos por intermédio da pesquisa de numerosas bibliotecas de pequenas moléculas (MARINHO et al., 2020; (YURIEV; ADOSTINO; RAMSLAND, 2011).

Existem diversas aplicações do uso do Docking na descoberta de fármacos, como na avaliação de inibidores da aromatase para o tratamento do câncer de mama (SUVANNANG et al., 2011) e da acetilcolinesterase para o tratamento da doença de Alzheimer (CHENG et al., 2020; MEDEIROS FILHO et al., 2020), na busca de medicamentos contra a COVID-19 (SINGH; FLOREZ, 2020).

Desta forma, a Modelagem Molecular consiste em um conjunto de ferramentas para a construção, edição e visualização, análise e armazenamento de sistemas moleculares complexos, podendo ser utilizada em estratégias de modelagem direta e indireta de novos fármacos (BARREIRO et al., 1997). Esses métodos conseguem simular com grande eficácia a interação entre um ligante-proteína, tornando possível a obtenção de resultados da relação quantitativa da estrutura e sua atividade biológica (SANT'ANNA, 2009).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Seleção dos ligantes de *Pterodon emarginatus*

Foram selecionados compostos de várias classes oriundas da espécie como flavonoides, alcaloides, terpenóides, cumarinas, saponinas entre outras de folhas, cascas e sementes da planta sucupira branca. Os componentes químicos foram desenhados ou adquiridos na base de dados PubChem para posterior otimização molecular.

4.2 Determinação do sitio ativo

Os sítios ativos da estrutura da glicoproteína de pico SARS-CoV-2 no estado fechado foi determinada usando o servidor GASS-WEB (<https://gass.unifei.edu.br/>), uma ferramenta que trabalha com cálculos utilizando o método de algoritmos genéticos buscando resíduos correspondentes armazenados em bancos de dados como o Catalytic Site Atlas (CSA), National Center for Biotechnology Information (NCBI) e Protein Data Bank (PDB) que já apresentam sitio conhecidos e comprovados.

Os modelos passam por cálculos de desvio médio quadrático (RMSD) comparando o modelo e os resíduos pesquisados. Essa metodologia foi capaz de identificar 90% dos sítios ativos catalíticos catalogados (MORAES et al., 2017). A metodologia da busca do sitio ativo por similaridade pode ser observada por IZIDORO; DE MELOMINARDI; PAPPA (2015).

4.3 Docagem Molecular

As estruturas em 3D dos alvos de coronavírus foram obtidos no banco de dados de proteínas PDB com os respectivos códigos, foram previamente descritas por BASTOS et al., (2020). As docagens foram realizadas utilizando o programa Autodock Tools (ADT) (<http://autodock.scripps.edu/>), versão 1.5.6 (GOODSELL; MORRIS, 1996; GOODSELL, 2005; MORRIS et al., 2008).

As proteínas e ligantes foram preparadas com a remoção de todas as moléculas de água e outros grupos, como íons usando o software Chimera v.13.1 (PETTERSEN et al., 2004). O receptor foi considerado rígido, enquanto que cada ligante foi considerado flexível.

As cargas parciais Gasteiger (GASTEIGER & MARSILI, 1980) foram calculadas após a adição de todos os hidrogênios. Os átomos de hidrogênio não polares de proteínas e ligantes serão subsequentemente mesclados. Será gerada uma caixa cúbica de 60 x 60 x 60

pontos com resolução de 0,35 Å entre os pontos da grade para todo o alvo da proteína. Os centros das grades de afinidade molecular foram definidos a partir das coordenadas dos átomos dos resíduos.

O algoritmo genético lamarckiano (AGL) com busca global (MORRIS et al., 1998) e pseudo-Solis e Wets com busca local (SOLIS, 1981) foram os métodos utilizados na docagem molecular. Cada simulação consistirá de 100 corridas independentes (RAMOS et al., 2012).

O restante dos parâmetros do docagem molecular foi definido com os valores padrões. As análises são concentradas nos grupos de menor energia. A conformação de menor energia combinada com inspeção visual foi escolhida para uma análise mais detalhada (ROCHA et al., 2018).

4.4 Predição ADME-TOX

A predição de parâmetros farmacêuticos foi realizada utilizando a ferramenta online pkCSM – pharmacokinetics (<https://biosig.lab.uq.edu.au/pkcsm/>). A metodologia in sílica avalia as propriedades do ADMET, as quais incluem; absorção (permeabilidade Caco-2, solubilidade em água, absorção intestinal humana, substrato P-glicoproteína, inibidores P-glicoproteína I e II, permeabilidade cutânea), distribuição (volume de distribuição em estado estacionário (VDss), fração não ligada, permeabilidade da barreira hematoencefálica (BBB), permeabilidade do sistema nervoso central), metabolismo (inibidores do citocromo P450, substrato CYP2D6/CYP3A4), excreção (substrato OCT2 renal, depuração total do fármaco) e toxicidade (Rat LD50, toxicidade AMES, toxicidade *Tetrahymena pyriformis* (Ehremberg, 1830), toxicidade minnow, dose máxima tolerada, toxicidade crônica oral em ratos, hepatotoxicidade, sensibilização cutânea) (ROCHA et al., 2018)

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os parâmetros de afinidade molecular utilizando o autodock Vina e autodock tools, resultaram no preparo de 44 compostos da *Pterodon emarginatus* com as quatro proteínas do coronavírus, sendo elas a 6VXX (Spike), 1R42N (Eca), 6LU7 (Mpro) e a RECEPTOR3 possibilitando um total de 176 docagens moleculares, estando descritas na tabela 01 com suas respectivas energias de ligação.

Tabela 01: parâmetros de afinidade molecular realizados através do método vina em ΔG_{bind} (kcal/mol-1) entre os constituintes químicos da planta *P. emarginatus* com as proteínas Spike, Mpro, Receptor3 (RBD) do novo coronavírus Covid-19 e ACE2

		ΔG_{bind} (kcal.mol ⁻¹)				
Partes da planta	Quantidade	Nome compostos	SPIKE	ECA	MPRO	RECEPTOR3
			6vxx	1R42n	6lu7	Receptor3
Óleo sementes	1	Alfa-cubebeno	-6.6	-5.9	-5.6	-6.3
	2	Beta-cubebeno	-6.7	-5.8	-5.6	-6.3
	3	Biciclogermacreno	-6.8	-5.5	-5.2	-6.3
	4	Cis-calameneno	-6.6	-6.6	-5.5	-6.2
	5	Copaeno	-6.7	-5.7	-5.3	-6.3
	6	Delta-Cadineno	-6.2	-6.0	-6.0	-6.0
	7	Germacreno D	-6.8	-5.9	-5.3	-6.4
	8	Humuleno	-6.7	-5.7	-4.9	-6.3
	9	Isoflavona	-7.1	-6.5	-6.9	-6.4
Folhas	10	Beta-sitosterol	-7.8	-7.1	-6.3	-7.0
	11	Estigmasterol	-8.0	-7.2	-6.6	-7.1
Sementes	12	Cumarina	-5.9	-5.4	-5.1	-6.5
Casca	13	Lupeol	-9.1	-8.5	-7.3	-7.4
Outros compostos da planta	14	Allo-aromadendrene	-7.2	-5.9	-5.3	-6.5
	15	Alpha-humuleno	-6.7	-5.4	-5.1	-5.9
	16	Beta-elemene	-6.1	-5.3	-4.9	-6.0
	17	Bicyclogermacrene	-6.8	-5.5	-5.3	-6.3
	18	Gamma-cadinene	-6.7	-6.2	-5.7	-6.5
	19	Gamma-muurolene	-6.4	-5.7	-5.4	-6.4
	20	Leucoanthocyanidino	-8.6	-7.3	-7.2	-6.9
	21	Acetoxylvouacapane	-9.6	-6.9	-7.2	-7.3
	22	Ácido linoleico	-5.3	-4.5	-4.5	-5.4
	23	Betulina	-8.6	-8.0	-7.0	-7.4
	24	isopropenyl	-3.8	-3.7	-3.6	-4.0
	25	Isopropilbenzene	-5.2	-4.8	-4.3	-5.3
	26	Methyl linolelaidate	-4.7	-4.3	-4.3	-5.0
	27	Pentenone	-3.8	-3.3	-3.4	-3.9
Terpenoides	28	Chalcona	-6.8	-6.5	-6.0	-6.6
	29	Zingiberene	-6.5	-4.8	-5.3	-6.4
	30	Anethole	-5.2	-4.6	-4.5	-6.1
	31	Capsaicin	-7.0	-6.2	-6.2	-6.9
	32	Carvacrol	-6.1	-5.3	-4.8	-6.3
	33	Carvomenthenol	-5.8	-4.8	-4.6	-5.1
	34	Cinnamaldehyde	-5.0	-4.5	-4.1	-5.4
	35	Eugenol	-5.5	-5.1	-4.7	-5.6
	36	Guaiol	-7.0	-5.9	-5.8	-6.0

	37	Thymol	-5.8	-5.1	-4.6	-6.1
	38	Elatin	-8.5	-8.0	-7.6	-8.0
Flavonoides	39	Elatin (flavonoid)	-8.6	-7.6	-8.2	-8.6
	40	Fenilalanina	-6.1	-4.9	-5.0	-5.3
	41	Flavonoid K	-7.1	-6.7	-7.1	-6.9
	42	Laurifolin	-8.7	-7.1	-7.8	-6.8
	43	Laurifolin (flavonoid)	-8.0	-7.9	-8.0	-7.2
	44	Ternatin	-6.9	-6.5	-7.0	-6.5

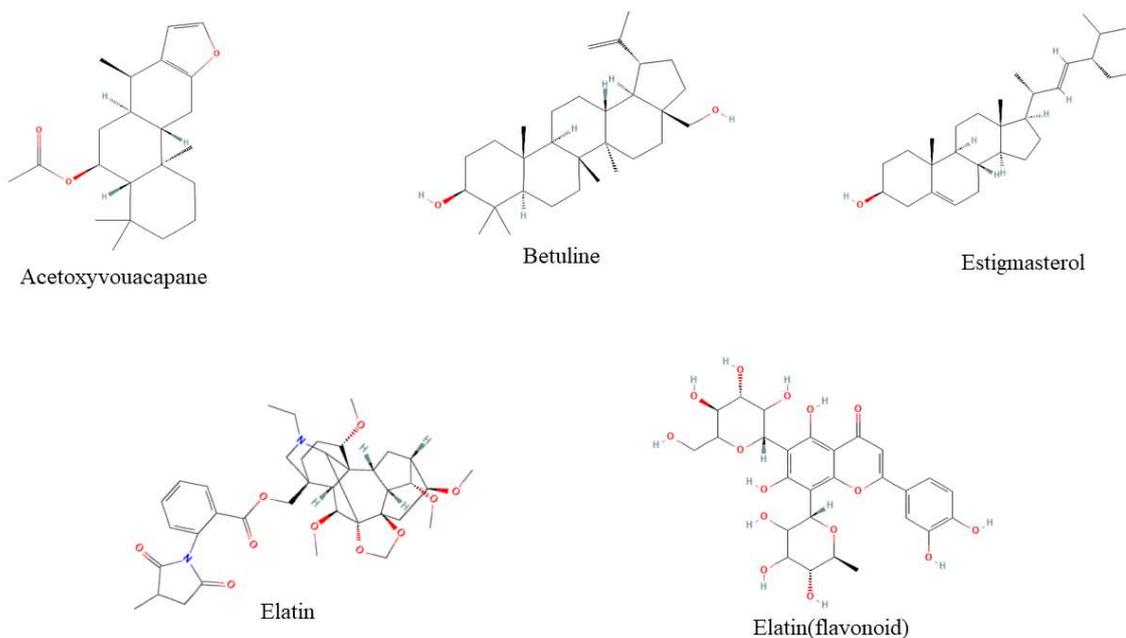
Fonte: autoria própria, 2023

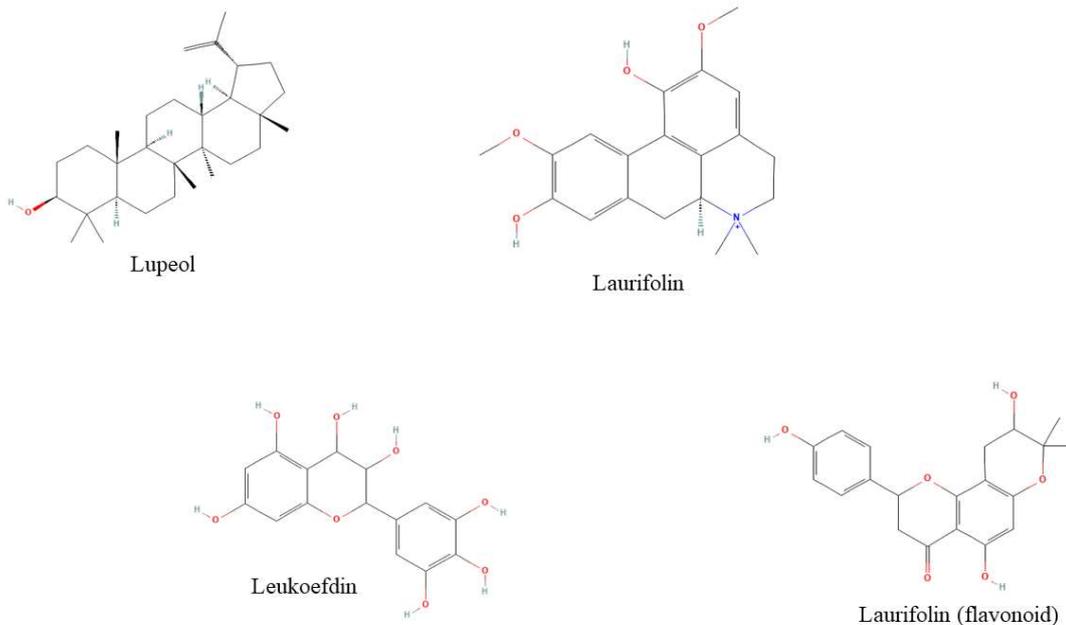
A ancoragem virtual possibilitou utilizar um algoritmo genético para calcular a ancoragem entre ligantes-proteína. O algoritmo busca soluções por meio do encaixe molecular gerando múltiplas cópias de modelos flexíveis do ligante no sítio ativo da proteína alvo (receptor).

Em outras palavras, ele explora toda a flexibilidade conformacional do ligante com a flexibilidade parcial da proteína. Para avaliar a eficácia da interação ligante-proteína, analisamos os dados obtidos, avaliamos como melhor potencial inibidor a energia de ligação menor que -8.0 Kcal/mol.

Todas as estruturas 3D de interesse identificadas da sucupira branca, foram retiradas do banco de dados de química PubChem (KIM et al., 2021) e posteriormente envolvidas com as proteínas do SARS-CoV-2 (Spike, Eca, Mpro, Receptor5) no software autodock Vina como possíveis inibidores. Na figura 02 estão os compostos com as melhores interações moleculares.

Figura 02: compostos químicos identificados nas folhas, cascas, e outras partes da planta sucupira (*P. emarginatus*).





Fonte: autoria própria, 2023

O diterpeno furânico acetoxivouacapano, possui uma fórmula molecular $C_{22}H_{32}O_3$, é encontrado no extrato hexânico dos frutos da sucupira é considerado promissor agente larvicidas sobre *Aedes aegypti* (PIMENTA et al, 2006), também é um composto proveniente da espécie. Betulina é um triterpenóide pentacíclico que é lupano possui fórmula molecular $C_{30}H_{50}O_2$, tem função como metabólito, agente antiviral, analgésico, anti-inflamatório e antineoplásico.

O estigmasterol é um derivado esteroide caracterizado pelo grupo hidroxila, é encontrado nas gorduras e óleos de soja, feijão-calabar e colza, bem como em vários outros vegetais, legumes, nozes, sementes e leite não pasteurizado, é um 3beta-sterol, tem um papel como metabólico vegetal. A elatina é um alcaloide, possui uma fórmula molecular de $C_{38}H_{50}N_2O_{10}$.

O lupeol é um triterpenóide pentacíclico que é o lupano no qual o hidrogênio na posição 3beta é substituído por um grupo Hidroxi. Tem fórmula molecular $C_{30}H_{50}O$. Ocorre na casca das sementes de tremoço, bem como no látex da figueira e da seringueira. Também é encontrado em muitas frutas e vegetais comestíveis. Tem um papel como um fármaco anti-inflamatório e um metabólito vegetal.

Laurifolin é um produto natural com fórmula molecular $C_{20}H_{24}NO_4$. Leukoefdin é um flavanol que é 3,4-dihidro-2H-cromeno que é substituído nas posições 3, 4, 5 e 7 por grupos hidróxi, e na posição 2 por um grupo 3,4,5-trihidroxifenil. É um hidroxiflavan,

um membro dos catecols, um glicol, um membro dos resorcinols, um álcool secundário e um polifenol.

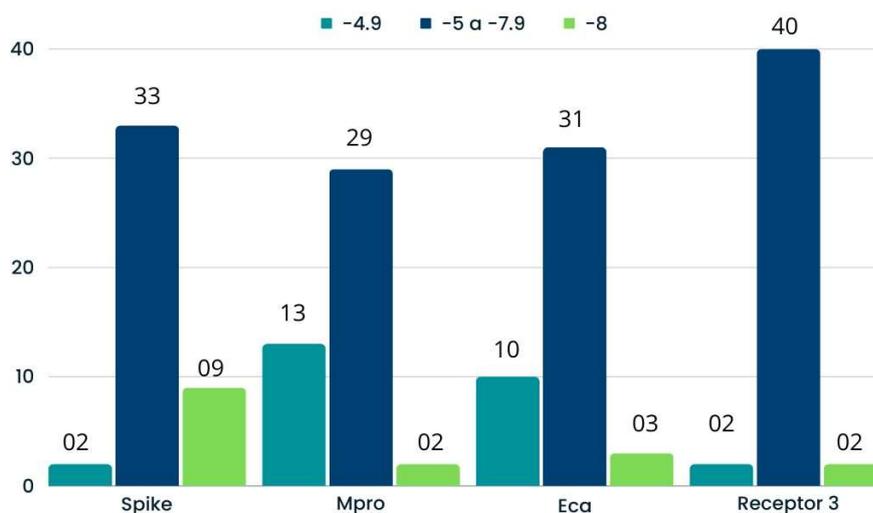
Os 44 compostos preparados e envolvidos junto as 4 proteínas, tiveram variações significativas levando em consideração os valores analisados, a Eca2, Mpro e receptor3 foram menos afetados na ancoragem molecular, podendo assim ser interpretados como menos propícios a inibição com as moléculas utilizadas na triagem.

A proteína Spike demonstrou ser bastante promissora, tanto nos testes de docagem feitas com esses ligantes, como também serve como referência para a elaboração de medicamentos, por ser uma proteína de primeiro contato com o ser humano na infecção.

A eficiência da ligação ligante-proteína, se deu muito abaixo em relação a quantidade de moléculas utilizadas (gráfico 01). Na coluna em verde escuro (pêssego) temos as energias que variaram entre 0 a -4.9 Kcal.mol.

Nas colunas em verde claro foram avaliadas com energia inferiores a -8 Kcal.mol, classificadas como as mais promissoras para estudos posteriores. Na coluna em azul as energias entre -5 a 7.9 kcal.mol, sendo as mesmas obtendo uma maior quantidade de resultados com médias de 33 compostos por coluna.

Gráfico 01: quantidade de compostos orgânicos que foram utilizadas nas proteínas Spike, Mpro, ECA2, Receptor3.



Fonte: autoria própria, 2023

A utilização de compostos orgânicos para as interações moleculares da planta sucupira (*P. emarginatus*) resultou em um encaixe promissor com ligantes junto a proteína Spike equivalente a 22% do total de moléculas obtidas, desta forma, as melhores conformações obtidas no docking, estão dispostas na (tabela 2) para demonstração dos valores adquiridos com cada composto orgânicos identificado nas partes da planta, e as representações dos aminoácidos envolvidos na ligação.

Tabela 02: Constituintes com melhores resultados ligante/proteína por ligações de hidrogênio e interação hidrofóbica.

LIGANTE- PROTEÍNA	ΔG_{binda} (kcal.mol ⁻¹)	AMINOÁCIDOS QUE INTERAGIRAM POR PONTES DE HIDROGÊNIO	AMINOÁCIDOS QUE INTERAGIRAM POR INTERAÇÃO HIDROFÓBICA
Acetoxycoupane/6VXX	-9.6	-	Leu546; Val976; Thr572; Asn978; Ser975; Leu977; Arg1000; Gly744; Asn856; Phe855; Met740; Asp745; Gly548; Phe541; Thr547; Thr573
Betuline/6VXX	-8.6	-	Ile973; Asp428; Thr430; Phe515; Phe464; Pro426; Ser514; Glu516; Leu518; Leu517; Arg983
Estigmasterol/6VXX	-8.0	Asp571	Asp979; Arg567; Ser974; His519; Leu517; Pro426; Phe429; Thr430; Phe515; Ser514; Glu516; Leu518; Ile973; Val976
Elatin/6VXX	-8.5	Arg983	Pro426; Phe464; Thr430; Asp428; Ile973; Ser974; Ser975; Leu517; Leu518
Elatin(flavonoid)/6VXX	-8.6	Ser975; Ser967; Asp571; Asp40; Asp53; Thr51; Gln52; Lys41	Arg567; His519; Ala520; Leu518; Pro39; His49
Lupeol/6VXX	-9.1	-	Arg983; Ile973; Thr430; Ser514; Phe464; Pro426; Phe515; Asp428; Leu518; Glu516; Leu517
Leukoefdin/6VXX	-8.6	Tyr741; Asp745; Thr549	Ile742; Leu966; Gly744; Phe541; Gly548; Ile587; Pro589; Thr573; Thr572; Leu977; Asn856
Laurifolin/6VXX	-8.7	Asn856	Thr572; Gly744; Asn978; Thr573; Thr549; Pro589; Gly548; Asp568; Phe541; Phe855
Laurifolin (flavonoid)/6VXX	-8.0	Phe515; Ser974; Asp979; His519	Val42; Arg567; Asp40; Val976; Arg983; Thr430; Leu517; Glu516; Leu518
Lupeol/1R42	-8.5	Glu402	Ala348; Zn804; Phe40; Leu351; Asp350; Ser44; Ser47; Trp349; Thr347; Pro346; His378
	-8.0		His378; Zn804; Glu402; Ala348;

Betuline/1R42	-		Asp350; Phe40; Leu351; Ser44; Ser47; Trp349; Thr347; Pro346.
Elatin/1R42	-8.0	Asp350; Arg514	Ala348; Phe40; Ser44; Trp349; Asp382; His378; Zn804; Glu375; His401; Glu402
Elatin (flavonoid)/6LU7	-8.2	Arg188; Gln192; Thr190; Glu166; Asn142; Gly143; Thr26	Leu27; Thr25; Met49; His41; Met165; Gln189; Pro168; Cys145
Laurifolin (flavonoid)/6LU7	-8.0	Glu166; Asp187; Tyr54	Gln189; Arg188, Pro168; Met165; His164; His41; Met49
Elatin/RECEPTOR3	-8.0	Arg393; Phe390; Lys417	Arg403; His34; Glu37; Ala387; Tyr505; Glu406; Ala386; Asp405; Ile418; Asn33; Pro389
Elatin (flavonoid)/RECEPTOR 3	-8.6	Asp405; Ala386; Tyr505; Phe390; Arg393; Asn33; Asp30; Gln96; Thr92	Glu37; His34; Lys26; Val93; Lys417; Pro389; Ala387

Fonte: autoria própria, 2022

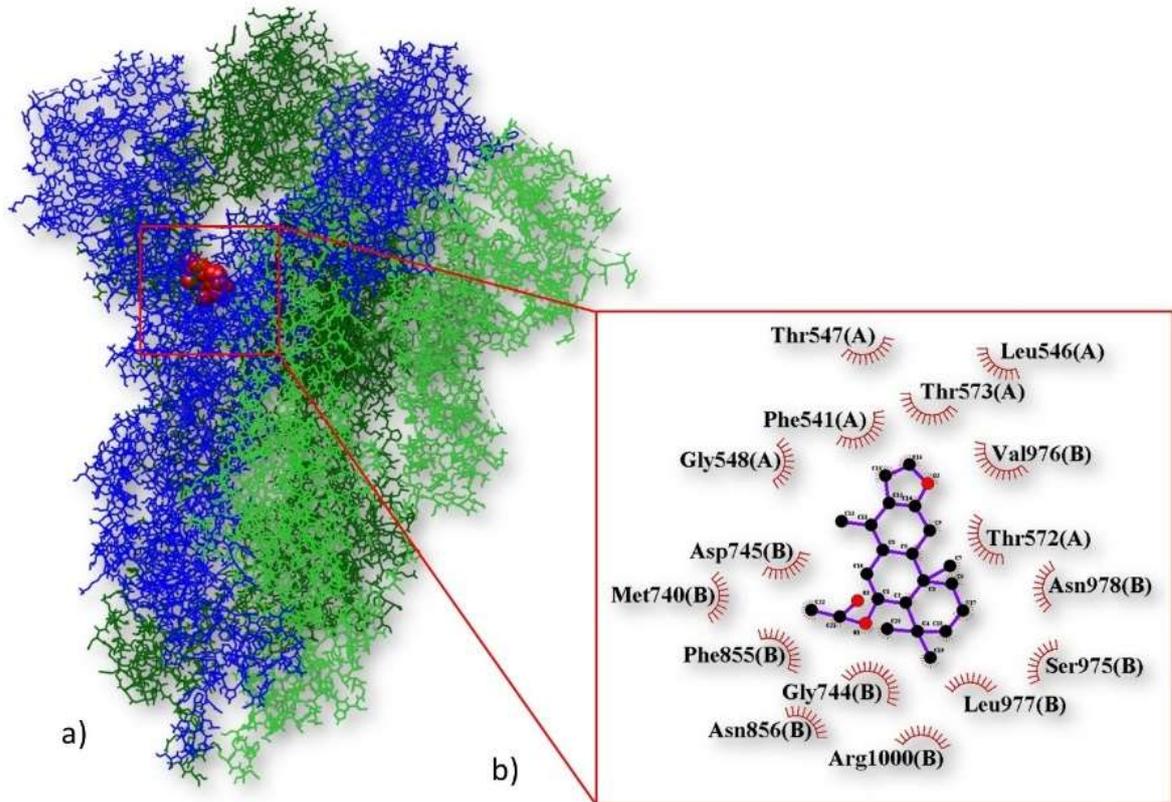
Estão isolados os compostos candidatos a interromper o progresso da infecção viral (tabela 02), destacando a proteína Spike como principal alvo de ligação, sendo selecionadas os ligantes por apresentarem uma boa ancoragem molecular na região ativa das proteínas do SARS-CoV-2. As ligações de hidrogênio são acompanhadas respectivamente pelos aminoácidos que interagiram por ligação hidrofóbicas, identificadas a partir do programa LigPlot.

As melhores combinações foram com a proteína Spike (6VXX), escolhendo como melhor resultado no encaixe molecular da acetoxycoumarone (figura 03) encontradas nas folhas da planta sucupira, obtendo uma energia de ligação de -9.6 Kcal.mol, gerando aminoácidos Leu546; Val976; Thr572; Asn978; Ser975; Leu977; Arg1000; Gly744; Asn856; Phe855; Met740; Asp745; Gly548; Phe541; Thr547; Thr573 que interagiram por ligação hidrofóbica.

O Lupeol com o segundo melhor acoplamento com energia de -9.1 Kcal.mol possibilitando a visualização dos aminoácidos Arg983; Ile973; Thr430; Ser514; Phe464; Pro426; Phe515; Asp428; Leu518; Glu516; Leu517 por ligação hidrofóbica.

As duas principais substâncias envolvidas, não apresentaram em resposta os aminoácidos por ligação de hidrogênio. Deste modo, o valor negativo indica maior espontaneidade, estabilidade, e conseqüentemente, maior eficácia do ligante em inibir seu receptor (JÚNIOR; GONÇALVES, 2019).

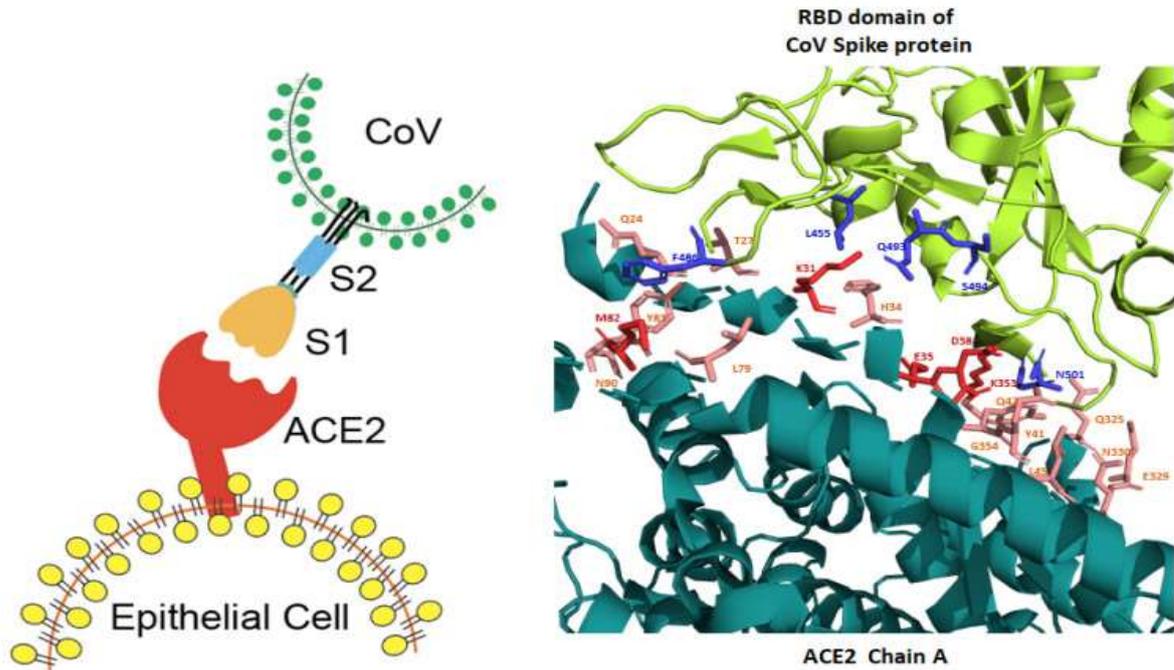
Figura 03: Complexo Acetoxycouapane com a proteína Spike. (A) estrutura tridimensional entre a proteína (verde, azul) e ligante (vermelho). (B) Diagrama LigPlot+ das ligações hidrofóbicas (vermelho)



Fonte: autoria própria, 2023

O destaque para essa proteína é por ela ser a responsável pela entrada do vírus na célula humana onde a mesma se acopla ao receptor ACE2 conhecida como enzima conversora de angiotensina 2, não sendo capaz dos anticorpos neutralizar a entrada do vírus no corpo. Esta proteína medeia a ligação ao receptor e a fusão da membrana viral com a célula, após isso é liberada o RNA que está no interior do vírus sendo representada na (figura 04).

Figura 04: Ligação da proteína Spike do SARS-CoV2 às células epiteliais nasais e pulmonares. Os bastões vermelhos e rosa são os resíduos na estrutura da enzima conversora de angiotensina-2 (ACE2). Os bastões azuis são os resíduos nas proteínas CoV Spike.



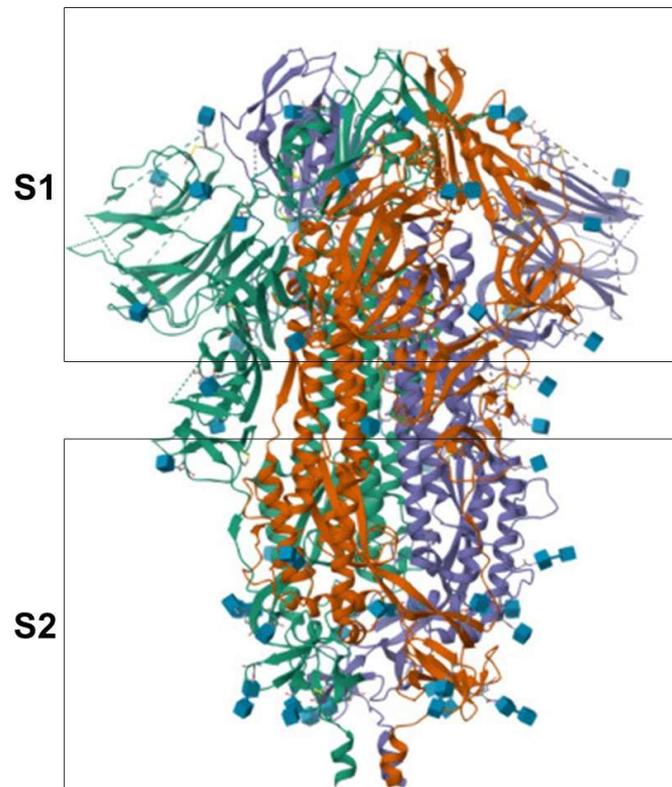
Fonte: department of immunology, 2020

A proteína Spike contém duas subunidades, S1 e S2. A subunidade S1 faz o reconhecimento e ligação do vírus às células hospedeiras. S1 contém um domínio de ligação ao receptor (RBD), que é responsável por reconhecer e se ligar ao receptor ACE2 (enzima conversora de angiotensina 2) nas células humanas. A interação entre o RBD e o ACE2 é crucial para a especificidade da infecção, determinando quais tipos de células o vírus pode infectar.

A subunidade S2 é responsável pela fusão da membrana viral com a membrana celular da célula hospedeira. Após a ligação do RBD ao ACE2, ocorre uma mudança conformacional na proteína Spike, expondo a região hidrofóbica na subunidade S2. Essa região hidrofóbica permite a inserção na membrana celular, facilitando a fusão das membranas viral e celular. Esse processo permite que o material genético do vírus entre na célula hospedeira, iniciando o ciclo de replicação viral.

A ligação ao receptor Spike foi identificada como alvo mais promissor para a eficácia desses compostos naturais. A acetoxycoumarone é um exemplo de composto natural que pode ser tratado para testes futuros. Além da Lupeol que apresentou um bom encaixe molecular. As mesmas não apresentaram resíduos de aminoácidos por ligação de hidrogênio.

Figura 05: região S1 e S2 da estrutura viral da proteína Spike



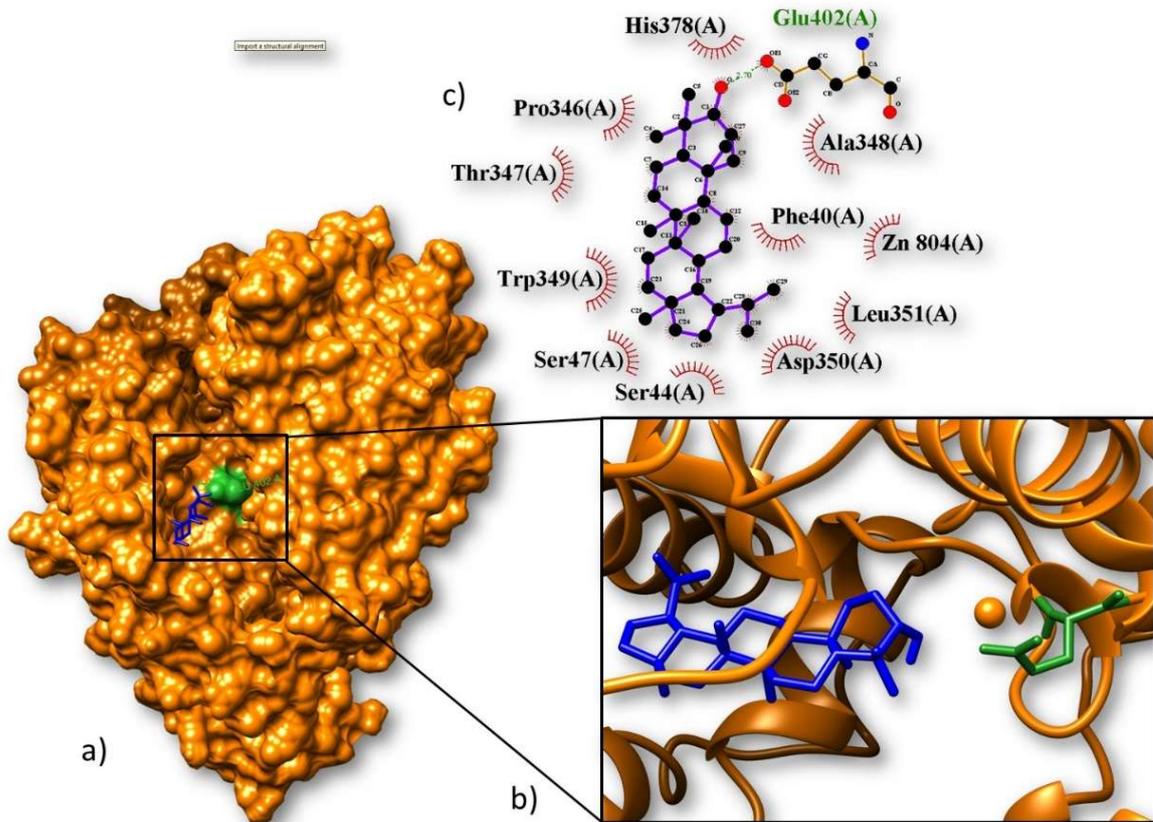
Fonte: autoria própria, 2023

A proteína Eca que é uma das mais promissoras, tanto como possível alvo para a produção de drogas antivirais, quanto para o desenvolvimento de vacinas, uma vez que é uma proteína mais conservada.

Isto significa que é traduzida a partir de uma região gênica que sofre pouca ou nenhuma variação (portanto, com menor risco para mutações), permitindo, portanto, a produção de fármacos mais específicos e com menos efeitos colaterais. Além disso, a proteína é extremamente imunogênica levando, portanto, a uma excelente ativação do sistema imune (PALMEIRA, 2021).

Desta forma, obtivemos um resultado promissor com energia de ativação intracelular equivalente a -8.5 Kcal.mol (figura 06) em que é a quantidade mínima de energia necessária para que ocorra a reação, gerando aminoácidos por pontes de hidrogênio glu402, e aminoácidos por ligações hidrofóbicas Ala348; Zn804; Phe40; Leu351; Asp350; Ser44; Ser47; Trp349; Thr347; Pro346; His378.

Figura 06: Complexo Lupeol com a proteína ECA2. (A) estrutura tridimensional entre a proteína (laranja) e ligante (azul). (B) Ampliação da região de encaixe. (C) Diagrama LigPlot+ da interação: pontes de hidrogênio (verde) e ligações hidrofóbicas (vermelho)



Fonte: autoria própria, 2023

A ECA2 também é conhecida por ser o receptor celular principal para o vírus SARS-CoV-2. A proteína ECA2 nas células humanas permite a entrada do vírus, facilitando a infecção. No contexto da infecção por SARS-CoV-2, há um interesse significativo na pesquisa sobre a regulação da ECA2 e seu papel na resposta imune e na progressão da doença.

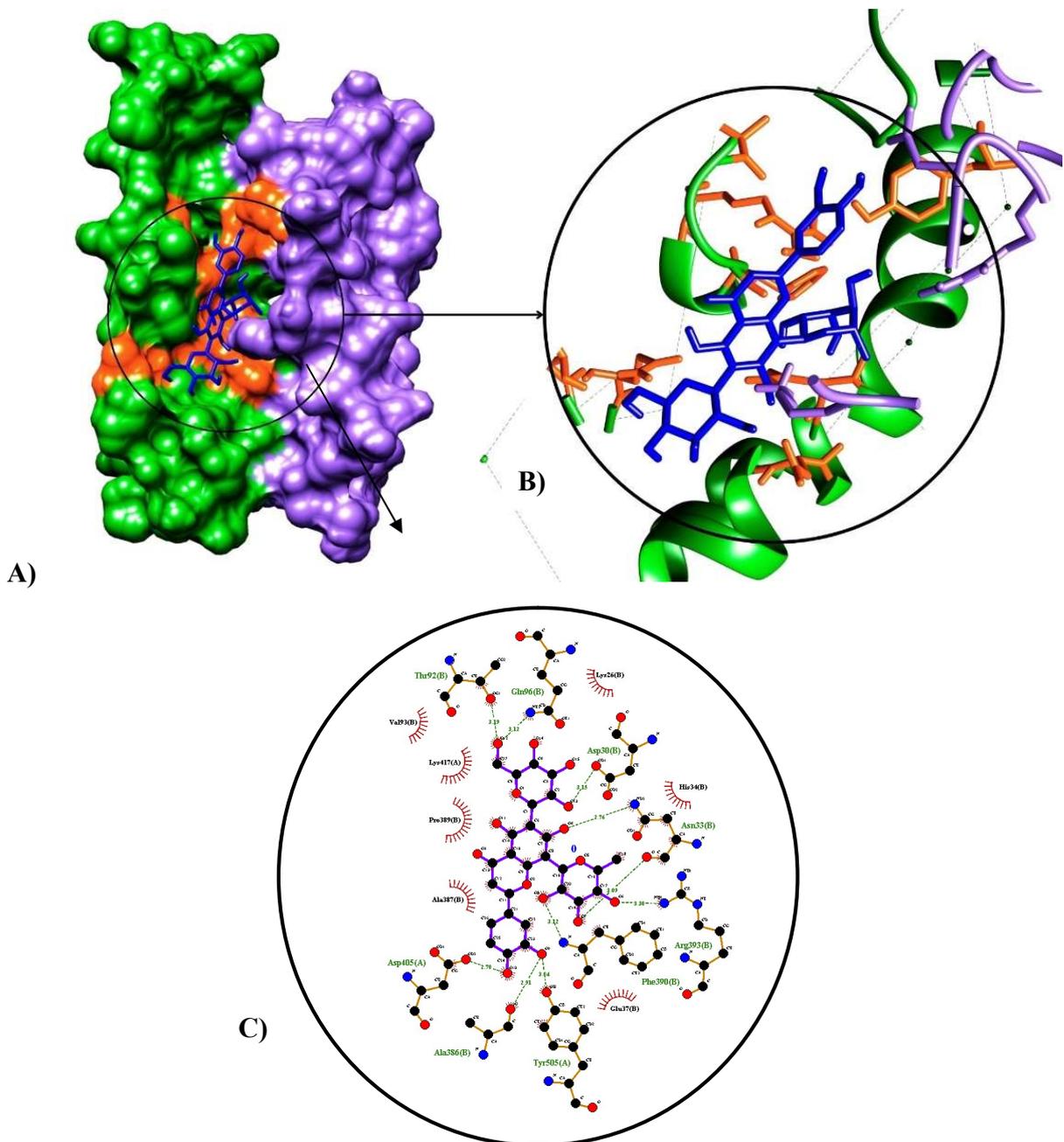
Lupeol é um triterpeno encontrado em diversas plantas, incluindo frutas, vegetais e ervas medicinais que tem sido estudado por seus potenciais propriedades farmacológicas, incluindo atividade anti-inflamatória, antioxidante e antitumoral, apresentou ser eficiente no docking molecular para inibição dessa macromolécula.

A subunidade é S1 composta pelo domínio de ligação ao receptor (RBD), responsável pela associação direta desta macromolécula 29 a enzimas presentes na superfície de células hospedeiras (ECA2), e S2, capaz de mediar a fusão da membrana (ORD; FAUSTOVA; LOOG, 2020).

Sendo que o RBD, como região isolada, resultou em uma energia de ativação de -8.6 Kkal.mol gerando aminoácidos por pontes de hidrogênio Tyr505; Phe390; Arg393; Asn33;

Asp30; Gln96; Thr92, e por ligação hidrofóbica a energia livre de ligação correspondente a -9,7 kcal.mol⁻¹ resulta das interações intermoleculares, seis por pontes de hidrogênio Glu37; His34; Lys26; Val93; Lys417; Pro389; Ala387, sendo demonstrado a seguir (figura 07) com sua estrutura tridimensional e respectivas ligações.

Figura 07: Complexo Elatin flavonoid com sítio de interação Spike(verde)/ECA2 (roxo) (RBD). (A) estrutura tridimensional entre a proteína e ligante (azul). (B) Ampliação da região de encaixe. (C) Diagrama LigPlot+ da interação: pontes de hidrogênio (verde) e ligações hidrofóbicas (vermelho).



Fonte: autoria própria, 2023

Com a Mpro, obtivemos 2 (dois) bons resultados, sendo eles com a Elatin (flavonoid) com energia de ligação de -8.2 Kcal.mol demonstrando na figura 04 a representação tridimensional por meio de simulações computacionais, e a Laurifolin (flavonoid) com energia de -8.0 Kcal.mol.

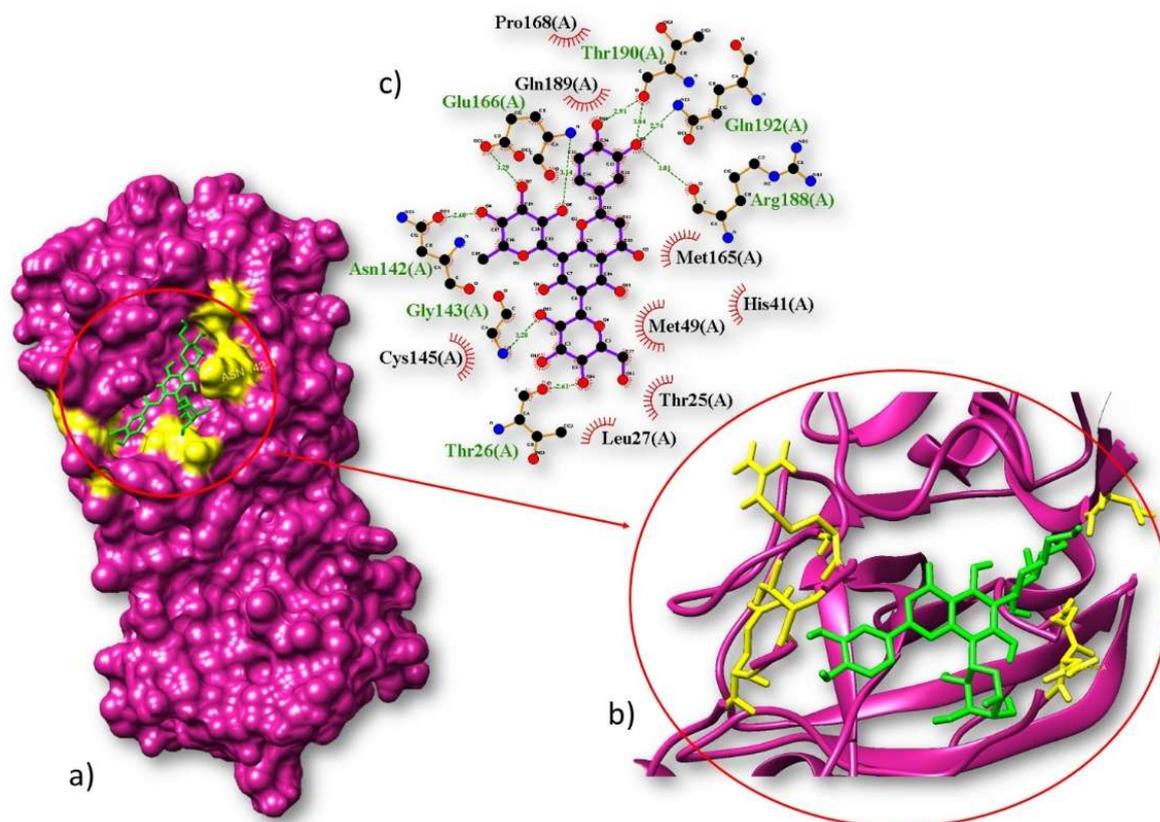
A ancoragem molecular do ligante elatin flavonoid (verde) se encaixa nos sítios de ligação da proteína Mpro (violeta) de maneira específica. Isso causa uma mudança conformacional na proteína, inibindo sua atividade catalítica.

A inibição da protease impede a clivagem das proteínas virais, o que é crucial para a replicação do vírus. A eficácia do ligante como um inibidor depende da estabilidade da ligação. Ligações mais fortes entre o ligante e a proteína Mpro geralmente resultam em uma inibição mais eficaz.

A ancoragem molecular que envolveu a proteína de replicação viral, foi bem sucedida com a molécula elatin flavonoid, sendo a mais promissora na interação ligante-proteína na inibição proteica.

Esse encaixe gerou aminoácidos de interação por pontes de hidrogênio Arg188; Gln192; Thr190; Glu166; Asn142; Gly143; Thr26, e interação hidrofóbicas Leu27; Thr25; Met49; His41; Met165; Gln189; Pro168; Cys145 com obtenção de uma energia de interação ligante-proteína equivalente a -8.2 Kcal.mol.

Figura 08: Complexo Elatin flavonoid com a proteína MPro. (A) estrutura tridimensional entre a proteína (roxa) e ligante (verde). (B) Ampliação da região de encaixe. (C) Diagrama LigPlot+ da interação: pontes de hidrogênio (verde) e ligações hidrofóbicas (vermelho)



Fonte: autoria própria, 2023

O conhecimento sobre a estrutura do Coronavírus 2019 é relevante, e especificamente suas proteínas e suas funções são cruciais para as pesquisas de novas drogas antivirais capazes de inibir a replicação do vírus e, desta maneira, reduzir o tempo e a intensidade dos sinais e sintomas da COVID-19.

Além disso, permite também o desenvolvimento de vacinas eficazes e sem perda de eficiência devido às várias mutações pelas quais o Coronavírus 2019 pode passar. É importante lembrar que os alvos devem ser precisos, para evitar e/ou reduzir a toxicidade dos antivirais para as células humanas, e, portanto, possam ter menos efeitos colaterais sobre a saúde.

Nas últimas décadas, têm-se estudado outras vias de administração de fármacos, mas a via oral continua sendo preferencial devido à sua conveniência, baixo custo e maior aderência ao tratamento pelo paciente (SOUZA; FREITAS; STORPIRTIS, 2007), intensificando o interesse pelo desenvolvimento de novos princípios bioativos com solubilidade aquosa e permeabilidade intestinal adequada, de forma a atingir sua concentração terapêutica na circulação sistêmica (ÇELIK, 1996; BALIMANE et. al., 2000).

Os parâmetros de previsão in-sílico inerentes a estas características (tabela 03) demonstram que os compostos de melhor afinidade molecular apresentam alto potencial de

absorção intestinal em humanos, com exceção do composto químico Leukoefdin, e solubilidade razoável mediante a capacidade hidrofílica necessária para a passagem aceitável pela membrana plasmática, uma vez que ambos os resultados se encontram dentro do intervalo -5 a -1 (mol/l) (JORGENSEN; DUFFY, 2002).

Tabela 03: propriedades de absorção dos compostos da planta *P. emarginatus* que obtiveram melhor resultado durante o processo de docagem molecular.

Compostos	Solubilidade em água (log mol/l)	P _{Caco2} (Log P _{app} em 10 ⁻⁶ cm/s)	AIH%	P.Skin (log K _p)
Acetoxycoupane	-2.782	1.61	94.733	-1.853
Betuline	-5.424	1.303	94.961	-2.736
Estigmasterol	-6.671	1.21	94.73	-2.781
Elatin	-3.782	1.191	93.303	-2.755
Lupeol	-5.56	1.208	95.208	-2.733
Leukoefdin	-2.898	0.028	56.081	-2.735
Laurifolin	-3.288	0.839	93.093	-3.167

Nota: PCaco2: permeabilidade de células Caco-2; AIH: potencial de absorção intestinal em humanos; P.Skin: permeabilidade da pele. Fonte: Autoria própria, 2023

As células Caco-2, derivadas do adenocarcinoma de cólon humano, responsável pela maioria das propriedades morfológicas e funcionais das células do epitélio intestinal, correspondem a um importante modelo *in vitro* para a triagem de absorção (GONÇALVES; SOUZA; STORPIRTIS, 2009).

Conforme sugerido pela literatura, os compostos químicos com coeficientes de permeabilidade menores que 1×10^{-6} cm/s, entre 1 e 10×10^{-6} cm/s e maiores do que 10×10^{-6} cm/s podem ser classificados, respectivamente, como fármacos pouco absorvidos (0-20%), moderadamente absorvidos (20-70%) e bem absorvidos (70-100%) (FERNANDES et. al, 2012; MEANWELL, 2011). Desta forma, os resultados computacionais visando definir a permeabilidade com base neste tipo celular, predizem os compostos selecionados como moderadamente absorvidos.

Com relação aos critérios toxicológicos (Tabela 04), o ensaio de mutação reversa bacteriana (Teste de Ames) utilizado para detectar mutagenicidade *in vitro*, crucial na descoberta e desenvolvimento de medicamentos como um sistema de alerta precoce para potencial carcinogenicidade e/ou teratogenicidade (HANSEN et. al. 2009), testou positivo apenas para a substância Leukoefdin.

Já a toxicidade aguda oral em ratos (LD50), responsável por prever a quantidade necessária de uma dada substância, ou tipo de radiação, para matar 50% de uma população em teste (PIMENTEL et. al., 2009), indicou os compostos Elatin e Estigmasterol como o mais

nocivo e inofensivo, respectivamente, uma vez que, quanto maior a dose letal, menor será seu grau de toxicidade.

Tabela 04: Propriedades de toxidade dos dos compostos da planta *P. emarginatus* que obtiveram melhor resultado durante o processo de docagem molecular.

Composto	T.AMES	D.M.T (log mg/kg/dia)	T.A.O (LD50) (mol/kg)	T.C.O (LOAEL) (log mg/kg_bw/dia)	S.Skin	Hepatotoxicidade
Acetoxycoupane	Não	0.53	1.745	2.353	Sim	Não
Betuline	Não	-1.04	3.154	1.972	Não	Não
Estigmasterol	Não	-0.639	2.345	0.802	Não	Não
Elatin	Não	-0.818	4.131	1.729	Não	Sim
Lupeol	Não	-0.521	2.658	0.75	Não	Sim
Leukoefdin	Sim	0.885	2.528	4.631	Não	Sim
Laurifolin	Não	-0.077	3.039	2.041	Não	Não

Nota: T.AMES; toxicidade AMES; D.M.T: dose máxima tolerada em humanos; T.A.O: toxicidade aguda oral em ratos; T.C.O: toxicidade crônica oral em ratos; S.Skin: sensibilização da pele; Hep.: Hepatotoxicidade. **Fonte:**

Autoria própria, 2023

No mesmo sentido, a toxicidade crônica oral em ratos (LOAEL), definida como a menor dosagem para observação de efeito adversos, apresenta o Leukoefdin como um antibiótico capaz de ser ingerido em maior quantidade sem acarretar em doenças crônicas.

Na predição de hepatotoxicidade, responsável por analisar se um determinado composto está associado a um evento patológico ou fisiológico do fígado, causando à interrupção da função normal do mesmo (NASCIMENTO, 2022), apenas os compostos Elatin, Lupeol e Leukoefdin são incapazes de ocasiona-la.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O conhecimento popular sobre o uso e a eficácia das plantas medicinais no tratamento dos sintomas das doenças que acometem a população, contribui de forma relevante para a divulgação e disseminação das suas potencialidades terapêuticas. A COVID-19 trouxe inúmeros desafios em diversas partes do mundo, principalmente a saúde pública, tendo que se reinventar e se reestruturar para conseguir amenizar as dificuldades encontradas durante a pandemia.

Com isso, os resultados obtidos, comprovamos que os compostos da sucupira (*Pterodon emarginatus*), possuem diferentes interações com as proteínas virais do SARS-CoV-2, proporcionando assim a descoberta de algumas ligações favoráveis a entrada na região proteica. Destacamos a Elatin e Elatin flavonoid com energias de ligações próximas nas quatro proteínas, e Lupeol sendo promissora na proteína S e ACE2, possibilitando assim, novas análises e novos testes com as mesmas em estudos posteriores.

Desta forma, com auxílio da bioinformática serão realizadas otimizações com as mesmas, e outros docking, com novas moléculas. Com isso, buscamos realizar um estudo *in vitro* com base nos resultados dos ensaios moleculares obtidos nas docagens, e através dos valores analisados, serão isolados os compostos da planta, e desenvolver com os extratos da sucupira (casca, folhas e frutos) um fármaco que possa colaborar com a comunidade científica na inibição do SARS-CoV-2 impossibilitando a infecção e replicação viral nas células humanas.

REFERÊNCIAS

- BASTOS, R. S.; SOUSA, C. S.; OLIVEIRA, J. S.; DA SILVA, M. H. V.; LIMA, F. D. A.; ROCHA, J. A. Prospecção de Proteínas do Novo Coronavírus, COVID-19, e Potencial da Bioinformática na Busca de Novas Drogas Promissoras. **Cadernos de Prospecção** – Salvador, v. 13, n. 2, Edição Especial, p. 347-358, abril, 2020.
- BERMAN, H. M.; WESTBROOK, J.; FENG, Z.; GILLILAND, G.; BHAT, T. N.; WEISSIG, H.; SHINDYALOV, I. N.; BOURNE, P. E. The Protein Data Bank. **Nucleic Acids Research**. v.28, p. 235242, 2000.
- BECKE, A. D. Density-functional thermochemistry.III. The role of exact exchange. **Journal of Chemical Physics**, v. 98, p. 5648-5652, 1993.
- BAI, Y. et al. Presumed asymptomatic carrier transmission of COVID-19. *Jama*, v. 323, n. 14, p. 1406-1407, 2020.
- BARREIRO, E. J. et al. Modelagem molecular: uma ferramenta para o planejamento racional de fármacos em química medicinal. *Química nova*, v. 20, n. 3, p. 300-310, 1997.
- ÇELIK, M. The past, present, and future of tableting technology. *Drug Develop. Ind. Pharm.*, v.22, n.1, p.1-10, 1996.
- CORMAN, V. M. et al. Hosts and Sources of Endemic Human Coronaviruses. *Advances in Virus Research*, New York, v. 100, p. 163-188, 2018. DOI: 10.1016/bs.aivir.2018.01.001. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0065352718300010>. Acesso em: 8 maio 2020.
- DENNINGTON, R. D.; KEITH, T. A.; MILLAN, J. M. GaussView, v. 5.0.8, Semicchem, Inc.: Shawnee KS, 2008.
- DUTRA, R. C.; BRAGA, F. G.; COIMBRA, E. S.; SILVA, A. D.; BARBOSA, N. R. Atividade antimicrobiana e leishmanicida das sementes de *Pterodon emarginatus* Vogel. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. Joao pesso, v.1, n.2 p. 429-430, 2009.
- DUTRA R. C; SILVA P. S; PITTELLA F. VICCINI L. F; LEITE M. N; RAPOSO N. R. B. Caracterização fitoquímica e citogenética das sementes de *Pterodon emarginatus* Vogel. *Revista eletrônica Técnico-Científica do IFSC*. v. 3 n. 1 p. 99-100, 2012.
- DIAS, Raquel; AZEVEDO, Walter. Molecular Docking Algorithms. *Current Drug Targets*, v. 9, p. 1040 – 1047, 2008.
- DEHARO, O *et al.* In vitro immunomodulatory activity of plants used by the Tacana ethnic group in Bolivia. *Phytomedicine: international journal of phytotherapy and phytopharmacology*, v. 11, p. 516–522, 2004.

- FERNANDES, Mariane *et. al.* Caco-2 cells cytotoxicity of nifuroxazide derivatives with potential activity against Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA). *Toxicol In Vitro*, v. 26, p. 535-540, 2012.
- FERREIRA, S.B; DANTAS, I.C.; CATÃO, R.M.R. Avaliação da atividade antimicrobiana do óleo essencial de sucupira (*Pterodon emarginatus* Vogel). *Revista brasileira de plantas medicinais*. Botucatu Apr, v. 16, n.2 p. 225-226, 2014.
- FRISCH, M. J.; TRUCKS, G. W.; SCHLEGEL, H. B. ; SCUSERIA, G.E. ; ROBB, M.A. ; CHEESEMAN, J. R et al. Sonnenberg, et al., Gaussian 16 Revision B.01, 2016.
- GUIDO, R. V. C.; ANDRICOPULO, A. D.; OLIVA, G. Planejamento de fármacos, biotecnologia e química medicinal: aplicações em doenças infecciosas. *Estudos Avançados*, São Paulo, v. 24, n. 70, 2010.
- GARCIA, L. P. Uso de máscara facial para limitar a transmissão da COVID-19. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, v. 29, p. e2020023, 2020.
- GASTEIGER, J.; MARSILI, M. Iterative partial equalization of orbital electronegativity-a rapid access to atomic charges. *Tetrahedron*, v. 36, n. 22, p.3219-3228, 1980.
- GATEIGER, J. The central role of chemo informtics. *Chemometric and IntelligentLaboratory Systems*, v. 82, n. 1-2, 200-209, 2006.
- GOODSELL D. S. Acoplamento computacional de complexos biomoleculares com o Auto-Dock. Em: Golemis E. A., Adams P. D., editores. *Interações proteínaproteína: um manual de clonagem molecular*. 2ª ed. Nova Iorque: Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2005.
- GOODSELL, D. S.; MORRIS, G. M.; OLSON, A. J. Automated docking of flexible ligands: applications of AutoDock. *Journal of Molecular Recognition*, v. 9, n. 1, p.1-5, 1996.
- GONÇALVES, J.E.; SOUZA, J.; STORPIRTIS, S. Avaliação da permeabilidade de fármacos empregando culturas celulares. In: STORPIRTIS *et al.* *Biofarmacotécnica - Série Ciências Farmacêuticas*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1ª ed, 2009, cap. 19, pag 204-211.
- GUIDO, R. VC; ANDRICOPULO, A. D. Modelagem molecular de fármacos. *Revista Processos Químicos*, v. 2, n. 4, p. 24-36, 2008.
- HANSEN, Katja *et. al.* Benchmark Data Set for in Silico Prediction of Ames Mutagenicity. *J. Chem. Inf. Model*, v. 49, n. 9, p. 2077–2081, 2009.
- HERNANDEZ-TERRONES. M. G; MORAIS S. A. L; FERREIRA. S. SANTOS. D. Q; NASCIMENTO E. A; CHANG. G. Estudo Fitoquímico e alelopático do extrato de caule de sucupira-branca (*Pterodon emarginatus*). *Planta Daninha*. Viçosa, v. 25 n.4 p. 756, 2007.
- HEALD-SARGENT, T., GALLAGHER, T. Ready, Set, Fuse! The Coronavirus Spike Protein and Acquisition of Fusion Competence. *Viruses*, Basel, v. 4, n. 4, p. 557-580, 2012. DOI:

10.3390/v4040557. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1999-4915/4/4/557>. Acesso em: 30 jul. 2020

JORGENSEN, William L.; DUFFY, Erin M. Prediction of drug solubility from structure. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 54, p. 355-366, 2002.

JÚNIOR, Edilson; GONÇALVES, Arlan. Estudo por docagem molecular de inibidores da enzima gsk-3 β : uma proposta para o tratamento do transtorno bipolar. *Revista Ifes Ciência*, v.5, n.1, 2019.

KHAN, M. T.; et al. Structures of SARS-CoV-2 RNA-Binding Proteins and Therapeutic Targets. *Intervirology*. Epub ahead of print. Jan. 2021. DOI: 10.1159/000513686 Disponível em <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33454715/>> acesso em março de 2023.

MORRIS, G. M. et al. Automated docking using a Lamarckian genetic algorithm and an empirical binding free energy function. *Journal of computational chemistry*, v. 19, n. 14, p. 1639-1662, 1998.

MORRIS, G. M.; HUEY, R.; OLSON, A. J. Using autodock for ligand-receptor docking. *Current protocols in bioinformatics*, v. 24, n. 1, p. 8.14. 1-8.14. 40, 2008.

MOTA. N. M; FORTINI. E. A; LUZ. G. R; VELOSO. M. D. M; FERNANDES. G. W; NUNES. Y. R. F. Influencia do tamanho e da escarificação dos diásporos na emergência e estabelecimento de *Pterodon emarginatus*. *Pesquisa Florestal Brasileira*. V.35 n. 82, p. 2, 2015.

MEANWELL, Nicholas. Improving Drug Candidates by Design: A Focus on Physicochemical Properties As a Means of Improving Compound Disposition and Safety. *Chemical Research in Toxicology*, v. 24, p. 1420–1456, 2011.

MORRIS, G. M *et. al.* AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *J Comput Chem*. v. 30, n.16, p. 2785-91, 2009.

NASCIMENTO, Pamela et. al. Análise in -sílico da toxicidade de metabólitos da espécie *Mellissa Officinalis L.* visando obtenção de novos fármacos. *Research, Society and Development*, v. 11, n.16, p. 1-8, 2022.

OPAS. Organização Pan-Americana de Saúde. Rede Regional de Vigilância Genômica de Covid-19. Disponível em < <https://www.paho.org/pt/node/4951/rede-regional-vigilancia-genomica-covid-19>> acesso em 2022.

ORD, Mihkel; FAUSTOVA, Ilona; LOOG, Mart. The sequence at Spike S1/S2 site enables cleavage by furin and phospho-regulation in SARS-CoV2 but not in SARS-CoV1 or MERSCoV. *Scientific Reports*, v.10, 2020.

- PETTERSEN, E.F.; GODDARD, T.D.; HUANG, C.C.; COUCH, G.S.; GREENBLATT, D.M.; MENG, E.C.; FERRIN, T.E. UCSF Chimera-a visualization system for exploratory research and analysis. *Journal of Computational Chemistry*, v.25, p.1605-1612, 2004.
- PEDROSO, R. S.; ANDRADE, G.; PIRES, R. H.; Plantas medicinais: uma abordagem sobre o uso seguro e racional. **Physis: Revista de Saúde Coletiva**. Rio de Janeiro, v. 31(2), e310218,2021. Disponível em <<https://www.scielo.br/j/physis/a/kwsS5zBL84b5w9LrMrCjy5d/>> . Acesso em 21 de fevereiro de 2023.
- PAGADALA, N. S.; SYED, K.; TUSZYNSKI, J. Software for molecular docking: a review. *Biophysical reviews*, v. 9, n. 2, p. 91-102, 2017.
- PIMENTEL, Luíz et. al. O inacreditável emprego de produtos químicos perigosos no passado. *Química Nova*, v. 29, p. 1138-1149, 2009.
- RAMOS, R. M. et al. Interaction of wild type, G68R and L125M isoforms of the arylamine-N-acetyltransferase from *Mycobacterium tuberculosis* with isoniazid: a computational study on a new possible mechanism of resistance. *Journal of molecular modeling*, v. 18, n. 9, p. 4013-4024, 2012.
- ROCHA, J. A. et al. Computational quantum chemistry, molecular docking, and ADMET predictions of imidazole alkaloids of *Pilocarpus microphyllus* with schistosomicidal properties. *PloS one*, v. 13, n. 6, p. e0198476, 2018.
- ROTHAN, H. A.; BYRAREDDY, S. N. The epidemiology and pathogenesis of coronavirus disease (COVID-19) outbreak. *Journal of autoimmunity*, p. 102433, 2020.
- SILVA, M. G. R. Desenvolvimento de candidatos à fármacos leishmanicidas: estudos computacionais por modelagem molecular e síntese química de novos derivados do safrol. 2020. Dissertação (Mestre em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Alfenas. Alfenas, 2020.
- SANTANA F. J. F; PERIN J. N; BILEGO U. O; RABELO R. E; VULCANI V. A. S; DE PAULA E. M. N. Intoxicação espontânea por *Pterodon emarginatus* (Fabaceae) em bovinos no Estado de Goiás. *Repositório Institucional UFG. Regional Goiânia*, p. 485-486, 2012.
- SUVANNANG, N. et al. Molecular docking of aromatase inhibitors. *Molecules*, v. 16, n. 5, p. 3597-3617, 2011.
- SANTOS, Alexandre P; ZATTA, Daniel T; MORAES, Weuller F; BARA, Maria Teresa F; FERRI, Pedro H; SILVA, Maria do Rosário R; PAULA, José R. Composição química, atividade antimicrobiana do óleo essencial e ocorrência de esteróides nas folhas de *Pterodon*

emarginatus Vogel, Fabaceae. Received 17 Sep 2009; Accepted 14 Apr 2010; Available online 10 Dec 2010.

SOLIS, F. J.; WETS, R. J.-B. Minimization by random search techniques. *Mathematics of operations research*, v. 6, n. 1, p. 19-30, 1981.

SOUZA, Jacqueline; FREITAS, Zaida; STORPIRTIS, Sílvia. Modelos *in vitro* para determinação da absorção de fármacos e previsão da relação dissolução/absorção. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, vol. 43, n. 4, p. 515-527, 2007.

SANTOS, Lucianna. Docagem molecular: em busca do encaixe perfeito e acessível. *BIOINFO*, n. 1, 2021.

WANG, W.; TANG, J.; WEI, F. Updated understanding of the outbreak of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) in Wuhan, China. *Journal of medical virology*, v. 92, n. 4, p. 441447, 2020.

WHO Coronavirus Disease (COVID-19) Dashboard. <https://covid19.who.int/> [Acesso em 07 de Maio de 2021].

YURIEV, E.; AGOSTINO, M.; RAMSLAND, P. A. Challenges and advances in computational docking: 2009 in review. *Journal of Molecular Recognition*, v. 24, n. 2, p. 149-164, 2011.

APÊNDICE

Tabela 1.1: Os dados adquiridos através da biblioteca PubChem estão descritas com seus compostos traduzidos do inglês para o português com seus parâmetros de afinidade molecular realizados através do método vina em ΔG_{bind} (kcal/mol-1) entre os constituintes químicos da planta *P. emarginatus* e proteínas virais.

Partes da planta	Quantidade	Nome compostos	ΔG_{bind} (kcal.mol-1)			
			SPIKE 6vxx	ECA 1R42n	MPRO 6lu7	RECEPTOR3 Receptor3
Óleo sementes	1	Alfa-cubeno	-6.6	-5.9	-5.6	-6.3
	2	Beta-cubeno	-6.7	-5.8	-5.6	-6.3
	3	Biciclogermacreno	-6.8	-5.5	-5.2	-6.3
	4	Cis-calameneno	-6.6	-6.6	-5.5	-6.2
	5	Copaeno	-6.7	-5.7	-5.3	-6.3
	6	Delta-Cadineno	-6.2	-6.0	-6.0	-6.0
	7	Germacreno D.	-6.8	-5.9	-5.3	-6.4
	8	Humuleno	-6.7	-5.7	-4.9	-6.3
	9	Isoflavona	-7.1	-6.5	-6.9	-6.4
Folhas	10	Beta-sitosterol	-7.8	-7.1	-6.3	-7.0
	11	Estigmasterol	-8.0	-7.2	-6.6	-7.1
Sementes	12	Cumarina	-5.9	-5.4	-5.1	-6.5
Casca	13	Lupeol	-9.1	-8.5	-7.3	-7.4
Outros compostos da planta	14	Alo-aromadendreno	-7.2	-5.9	-5.3	-6.5
	15	Alfa-humuleno	-6.7	-5.4	-5.1	-5.9
	16	Beta-elemeneno	-6.1	-5.3	-4.9	-6.0
	17	Biciclogermacreno	-6.8	-5.5	-5.3	-6.3
	18	Gama-cadineno	-6.7	-6.2	-5.7	-6.5
	19	Gama-muuroleno	-6.4	-5.7	-5.4	-6.4
	20	Leucoantocianidino	-8.6	-7.3	-7.2	-6.9
	21	Acetoxivouacapano	-9.6	-6.9	-7.2	-7.3
	22	ácido linoleico	-5.3	-4.5	-4.5	-5.4
	23	Betulina	-8.6	-8.0	-7.0	-7.4
	24	isopropenil	-3.8	-3.7	-3.6	-4.0
	25	Isopropilbenzeno	-5.2	-4.8	-4.3	-5.3
	26	Linoleilaidato de metila	-4.7	-4.3	-4.3	-5.0
	27	Pentenona	-3.8	-3.3	-3.4	-3.9
Terpenoides	28	Chalcona	-6.8	-6.5	-6.0	-6.6
	29	Zingibereno	-6.5	-4.8	-5.3	-6.4
	30	Anetol	-5.2	-4.6	-4.5	-6.1
	31	Capsaicina	-7.0	-6.2	-6.2	-6.9
	32	Carvacrol	-6.1	-5.3	-4.8	-6.3
	33	Carvomentenol	-5.8	-4.8	-4.6	-5.1
	34	Cinamaldeído	-5.0	-4.5	-4.1	-5.4
	35	Eugenol	-5.5	-5.1	-4.7	-5.6
	36	Guaiol	-7.0	-5.9	-5.8	-6.0
	37	Timol	-5.8	-5.1	-4.6	-6.1
Flavonoides	38	Elatina	-8.5	-8.0	-7.6	-8.0
	39	Elatina (flavonóide)	-8.6	-7.6	-8.2	-8.6
	40	Fenilalanina	-6.1	-4.9	-5.0	-5.3
	41	Flavonóide K	-7.1	-6.7	-7.1	-6.9
	42	Laurifolina	-8.7	-7.1	-7.8	-6.8
	43	Laurifolina (flavonóide)	-8.0	-7.9	-8.0	-7.2
	44	Ternatina	-6.9	-6.5	-7.0	-6.5