UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA

CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

CURSO DE BACHARELADO EM QUÍMICA

JHONANTA DO NASCIMENTO SILVA

AVALIAÇÃO *IN SILICO* DE FLAVONOIDES DA *Passiflora incarnata* L. COM POTENCIAL ANSIOLÍTICO E ANTIDEPRESSIVO

AREIA

2023

JHONANTA DO NASCIMENTO SILVA

AVALIAÇÃO *IN SILICO* DE FLAVONOIDES DA *Passiflora incarnata* L. COM POTENCIAL ANSIOLÍTICO E ANTIDEPRESSIVO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Bacharelado em Química da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Química.

Orientador: Profª. Drª. Yanna Carolina Ferreira Teles.

AREIA

2023

Catalogação na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

S586a Silva, Jhonanta do Nascimento.
Avaliação in silico de flavonoides da passiflora incarnata L. com potencial ansiolítico e antidepressivo / Jhonanta do Nascimento Silva. - Areia:UFPB/CCA, 2023.
40 f. : il.

Orientação: Yanna Carolina Ferreira Teles.
TCC (Graduação) - UFPB/CCA.

1. Química. 2. Estudo computacional. 3. Afinidade de ligação. 4. Maracujá. 5. Monoamina oxidase. I. Teles, Yanna Carolina Ferreira. II. Título.

UFPB/CCA-AREIA CDU 54(02)

Elaborado por LUCIANNA SILVESTRE DE CASTRO AZEVÊDO - CRB-15/973

JHONANTA DO NASCIMENTO SILVA

AVALIAÇÃO *IN SILICO* DE FLAVONOIDES DA *Passiflora incarnata* L. COM POTENCIAL ANSIOLÍTICO E ANTIDEPRESSIVO

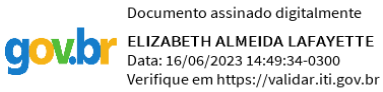
Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Bacharelado em Química da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Química.

Aprovado em: 21/03/2023.

BANCA EXAMINADORA

Profª. Drª. Yanna Carolina Ferreira Teles (Orientadora)

Universidade Federal da Paraíba (UFPB)



Profª. Drª. Elizabeth Almeida Lafayette (Examinadora)

Universidade Federal da Paraíba (UFPB)

Bel. Paulo Gomes Pereira Junior (Examinador)

Programa de Pós-graduação em Química da UEPB

Dedico este trabalho a meus pais ***Fernanda Maria do Nascimento*** *e* ***Valber de Souza*** *Silva, e a minha tia* ***Josefa Margarida de Freitas*** *os quais sempre acreditaram em mim e tornaram esta conquista possível.*

AGRADECIMENTO

Agradeço primeiramente a Deus, Ele foi meu sustento e me deu forças para prosseguir mesmo quando até eu mesmo estava desacreditado. Sem sua graça nada disso estaria sendo realizado.

Agradeço infinitamente aos meus pais *Valber Souza* e *Fernanda Maria*, por todo apoio, incentivo, conselhos, amor e carinho que me deram ao longo de toda minha vida, principalmente ao longo desses longos anos de graduação. Toda minha base, formação e valores vieram de vocês, tudo o que sou é devido aos seus ensinamentos. Obrigado por serem essenciais na minha formação. *Amo vocês!*

Agradeço a minha noiva e companheira de graduação, *Sabrina Pâmela*, por todo cuidado e perseverança. Você viveu de maneira integral todas as situações que passei nesta graduação, sempre esteve ao meu lado e me deu forças em todos os momentos em que mais precisei. Você foi minha família, minha melhor amiga e minha conselheira. Te amo irrevogavelmente, *Sabrina*. *Obrigado por tudo!*

Agradeço a minha segunda família, meu sogro e minha sogra, *Abenuval Júlio* e *Maria de Lourdes*. Vocês me deram todo suporte, me ajudaram nas mais variadas formas, sempre me incentivando e mostrando que sou capaz de ser o que eu quisesse ser. Vocês são muito importantes para mim. *Obrigado por tudo!*

A minha orientadora *Yanna Teles* que ao longo de toda elaboração desse trabalho de conclusão de curso sempre esteve me incentivando e me proporcionando muito conhecimento e sabedoria. *Obrigado pela oportunidade, por toda paciência e confiança.*

Agradeço também aos meus irmãos *Geovani Nascimento* e *Júlio Nascimento*, por me motivarem a ser melhor e evoluir como pessoa. Obrigado aos meus amigos e colegas da graduação e da vida, *Jean Félix*, *Pablo Marcelino*, *Luana Nascimento*, *Victor Carvalho, Ronaldo Silva, Brenno Santiago, Joabson Medeiros e Sandro Roberto*. Agradeço por toda força, incentivo e conselhos.

Agradeço a todos os professores do Departamento de Química e Física do campus II, em especial aos queridos professores *Péricles Farias*, *Sidney Santana* e *Dayse Moreira*. Obrigado por compartilharem seus conhecimentos comigo, saibam que levarei para vida todos os ensinamentos.

Agradeço essencialmente a minha família, aos meus amigos e todos os que contribuíram direta e indiretamente com esse trabalho. Saibam que vocês foram extremamente importantes!

RESUMO

A utilização de plantas com foco medicinal vem sendo abordada desde muito tempo. Os metabólitos produzidos por esses vegetais são usados pelas mais diversas culturas para muitas finalidades. Estudos mostram que a espécie *Passiflora incarnata* L., possui propriedades terapêuticas, aliviando crises de ansiedade bem como ajudando no tratamento da depressão. Flavonoides, grupo de moléculas naturais presentes em diversos vegetais como na *Passiflora incarnata*, são descritos como moléculas que possuem atividades farmacológicas importantes que interagem no sistema nervoso central, o que ajuda a modular importantes vias que se relacionam com muitos transtornos psiquiátricos. Uma dessas vias é a inibição da monoamina oxidase, que é uma enzima que atua na desaminação oxidativa de monoaminas endógenas e exógenas. A inibição da monoamina oxidase A (MAO-A) humana, isoforma da monoamina oxidase, pode gerar um aumento de neurotransmissores importantes no controle da ansiedade e Depressão, gerando um efeito ansiolítico e antidepressivo. Para acelerar o processo de descoberta de novos fármacos baseados em produtos naturais, a química computacional atrelada a química farmacêutica e medicinal elaboraram ferramentas que auxiliam no desenvolvimento de novas moléculas com propriedades farmacológicas. Diante disso, o presente trabalho atenta-se em avaliar as interações de flavonoides presentes na espécie *Passiflora incarnata* L. com potencial ação ansiolítica e antidepressiva na monoamina oxidase A através do método de docking molecular. Para o desenvolvimento do estudo, o receptor 2Z5X da estrutura cristalográfica da monoamina oxidase A, foi tratado através do software Discovery Studio e *AutoDockTools*, enquanto os 22 flavonoides presentes na *Passiflora incaranta* foram desenhados e otimizados no programa MarvinSketch. O cálculo do docking molecular foi realizado por meio do software *autodock vina* acoplado ao PyRx, onde foi criado o gridbox. As interações foram avaliadas no programa Discovery Studio. Os resultados mostraram que 10 dos flavonoides apresentaram afinidade de ligação com o receptor 2Z5X. 5 desses flavonoides apresentaram energia de ligação menores do que a do ligante co-cristalizado harmina que passou pelo processo de redocking, enquanto os flavonoides glicosilados apresentaram menor afinidade devido a presença dos carboidratos as suas estruturas. Todos os flavonoides interagiram com os resíduos da gaiola aromática TYR 444, TYR 407 e FAD 600. Sabendo que a inibição da monoamina oxidase A pode acarretar efeitos antidepressivos e ansiolíticos pode-se justificar a utilização dessa espécie para esses tipos de tratamentos. Os resultados apresentados possuem caráter teórico baseados em cálculos *in silico.* Eles sugerem e embasam a realização de experimentos *in vitro* e *in vivo* para avaliar aspectos farmacocinéticos, podendo apresentar efeito inibitório diferenciado a avaliações já realizadas.

Palavras-chave: estudo computacional; afinidade de ligação; maracujá; monoamina oxidase.

ABSTRACT

The use of plants with a medicinal focus has been approached for a long time. The metabolites produced by these plants are used by the most diverse cultures for many purposes. Studies show that the species Passiflora incarnata L., has therapeutic properties, relieving anxiety attacks as well as helping in the treatment of depression. Flavonoids, a group of natural molecules present in various plants such as Passiflora incarnata, are described as molecules that have important pharmacological activities that interact in the central nervous system, which helps to modulate important pathways that are related to many psychiatric disorders. One of these pathways is the inhibition of monoamine oxidase, which is an enzyme that acts in the oxidative deamination of endogenous and exogenous monoamines. The inhibition of human monoamine oxidase A (MAO-A), an isoform of monoamine oxidase, can generate an increase in neurotransmitters that are important in the control of anxiety and depression, generating an anxiolytic and antidepressant effect. To accelerate the discovery process of new drugs based on natural products, computational chemistry linked to pharmaceutical and medicinal chemistry have developed tools that help in the development of new molecules with pharmacological properties. Therefore, the present work aims to evaluate the interactions of flavonoids present in the species Passiflora incarnata L. with potential anxiolytic and antidepressant action on monoamine oxidase A through the molecular docking method. For the development of the study, the 2Z5X receptor of the crystal structure of monoamine oxidase A was treated using Discovery Studio and AutoDockTools software, while the 22 flavonoids present in Passiflora incaranta were designed and optimized using the MarvinSketch program. The molecular docking calculation was performed using the autodock vina software coupled to PyRx, where the gridbox was created. Interactions were evaluated in the Discovery Studio program. The results showed that 10 of the flavonoids showed binding affinity with the 2Z5X receptor. 5 of these flavonoids showed lower binding energy than the co-crystallized harmine ligand that underwent the redocking process, while the glycosylated flavonoids showed lower affinity due to the presence of carbohydrates in their structures. All flavonoids interacted with residues from the aromatic cage TYR 444, TYR 407 and FAD 600. Knowing that the inhibition of monoamine oxidase A can lead to antidepressant and anxiolytic effects, the use of this species for these types of treatments can be justified. The presented results are theoretical based on in silico calculations. They suggest and support the performance of in vitro and in vivo experiments to evaluate pharmacokinetic aspects, which may present a differentiated inhibitory effect to evaluations already carried out.

keywords: computational study; binding affinity; passion fruit; monoamine oxidase.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Mapa de distribuição da Passiflora incarnata L. 14
Figura 2 – Folhas e flor da Passiflora incarnata L. 14
Figura 3 – Estruturas das classes de flavonoides e alcalóides presentes na P. incarnata 15
Figura 4 – Principais flavonoides presentes na P. incarnata L. 17
Figura 5 – Estrutura cristalográfica da monoamina oxidase A (PDBid: 2Z5X) 19
Figura 6 – Gaiola aromática envolvendo os resíduos TYR 407, TYR 444 e a FAD na MAO-A 19
Figura 7 – Sobreposição entre a harmina cocristalizada (em verde) com a redocada (em amarelo) 25
Figura 8 – Interações existentes entre a apigenina e os resíduos de aminoácido no sítio ativo da MAO-A 27
Figura 9 – Principais interações entre a crisina e a macromolécula 2Z5X 28
Figura 10 – Principais interações entre o canferol e a macromolécula 2z5x 29
Figura 11 – Principais interações entre os flavonoides luteolina e a macromolécula 2Z5X 30
Figura 12 – Interações entre o flavonoide quercetina e a macromolécula 2Z5X 31
Figura 13 – Interações envolvendo os complexos dos flavonoides glicosilados com a macromolécula 2Z5X 33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Uso popular da espécie *P. incarnata* 16
Tabela 2 – Sítio ativo da Monoamina Oxidase A e características dos resíduos 20
Tabela 3 – Informações referentes ao redocking molecular 25
Tabela 4 – Ranqueamento da afinidade de ligação dos 10 flavonoides e da HRM redocada com menores energia de ligação com o receptor 2Z5X 26
Tabela 5 – Interações entre os flavonoides com o receptor 2Z5X e suas respectivas energias de interação 34

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ALA	Alanina
ARG	Arginina
ASN	Aspartato
CYS	Cisteína
DRX	Difração de raios-X
FAD	Flavina Adenina dinucleotídeo
GLN	Glutamina
GLU	Ácido Glutâmico
GLY	Glicina
HRM	Harmina
ILE	Isoleucina
IMAO	Inibidores da Monoamina Oxidase
LEU	Leucina
LYS	Lisina
MAO	Monoamina oxidase
MET	Metionina
PHE	Fenilalanina
PDB	*Protein Data Bank*
RMSD	*Root Mean Square Deviation*
SER	Serina
TAG	Transtorno de Ansiedade Generalizado
THR	Treonina
TYR	Tirosina
VAL	Valina

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 11
2 OBJETIVOS 13
2.1 OBJETIVO GERAL 13
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS 13
3 REFERENCIAL TEÓRICO 14
3.1 CONSIDERAÇÕES SOBRE A *PASSIFLORA INCARNATA* L. 14
3.2 MONOAMINA OXIDASE COMO ALVO TERAPÊUTICO 18
3.3 *DOCKING* MOLECULAR 20
4 METODOLOGIA 22
4.1 REVISÃO DE LITERATURA E SELEÇÃO DO RECEPTOR 22
4.2 TRATAMENTO DO RECEPTOR 22
4.3 VALIDAÇÃO DO MÉTODO DE *DOCKING* MOLECULAR POR REDOCKING 22
4.4 TRATAMENTO DOS LIGANTES 23
4.5 DOCKING MOLECULAR 24
4.6 ANÁLISE DOS RESULTADOS 24
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO 25
5.1 VALIDAÇÃO DO MÉTODO POR *REDOCKING MOLECULAR* 25
5.2 RESULTADOS DO DOCKING MOLECULAR DOS FLAVONOIDES DA *PASSIFLORA INCARNATA* 26
5.3 RESULTADOS DO *DOCKING MOLECULAR* E ANÁLISE DAS INTERAÇÕES 27
5.3.1 Interações envolvendo o flavonoide apigenina e a macromolécula 2Z5X 27
5.3.2 Interações envolvendo o flavonoide crisina e a macromolécula 2Z5X 28
5.3.3 Interações envolvendo o flavonoide canferol e a macromolécula 2Z5X 29
5.3.4 Interações envolvendo o flavonoide luteolina e macromolécula 2Z5X 30
5.3.5 Interações envolvendo o flavonoide quercetina e a macromolécula 2Z5X 31
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS 36
REFERÊNCIAS 37
APÊNDICE A - Tabela contendo energias livre de ligação dos 22 flavonoides presentes na *P. incarnata* 40

1 INTRODUÇÃO

Muitas espécies de vegetais possuem propriedades terapêuticas que acabam tornando a sua utilização fator essencial para a manutenção das condições de saúde das pessoas. Esse tipo de vegetal se caracteriza como medicinal quando elas são capazes de aliviar ou curar enfermidades e têm tradição de uso pela população (BORTOLUZZI et al. 2019; BRASIL, 2022).

Um vegetal pode produzir centenas ou milhares de substâncias que podem atuar no organismo seja na prevenção, tratamento ou cura de doenças. O conhecimento popular sobre essas plantas contribui com a descoberta de novos produtos farmacêuticos, ajudando no processo de bioprospecção em plantas. Todavia, somente a prática popular não é o suficiente para qualificar plantas ou substâncias derivadas dela como seguras e eficaz. Se faz necessário testes para averiguar com clareza os efeitos que determinadas plantas possuem ao interagir com o organismo evitando problemas a saúde de forma geral (FERREIRA, 2019; ROCHA et al. 2021; BRASIL, 2022).

Os estudos dos constituintes presentes nos extratos botânicos, principalmente em relação aos metabólitos secundários, são importantes principalmente para embasar o conhecimento popular a luz do conhecimento científico.

O gênero *Passiflora* apresenta várias espécies de vegetais com algum princípio fitoterapêutico, em especial para *Passiflora incarnata* L, que é amplamente utilizada no tratamento de transtornos psíquicos como no transtorno de ansiedade generalizado (TAG), depressão, bem como também apresenta ações analgésicas, antiespasmódicas, antitérmicas e anti-inflamatórias (SALVADOR et al., 2013; DE ALBUQUERQUE SIEBRA et al., 2015). Estudos com a *P. incarnata* revelaram uma grande variedade de metabólitos secundários no seu extrato.

Dentre os principais metabólitos secundários dessa espécie que apresentam efeitos ansiolíticos nos seres humanos, destacam-se os alcaloides, cumarinas e flavonoides. Essa última classe possui forte relação com aspectos cognitivos, e têm sido extensivamente examinados por suas atividades no sistema nervoso central. (LACERDA et al. 2019).

Existe uma forte relação entre o desenvolvimento de transtornos psiquiátricos como o TAG e Depressão com a isoenzima Monoamina Oxidase (MAO), que atua na desaminação oxidativa de diversas aminas biogênicas como neurotransmissoras e neuromoduladores dopamina, noradrenalina, adrenalina, serotonina (LIMA, 2019).

Atualmente a investigação do potencial farmacológico de moléculas envolve uma etapa inicial de avaliação *in silico* da interação da molécula com seu provável alvo biológico (PEREIRA JÚNIOR, 2021). O emprego de métodos computacionais para o reconhecimento em nível molecular da interação proteína-ligante é uma ferramenta importante para descoberta de novos fármacos, pois permitem analisar moléculas capazes de se ligar a determinados sítios receptores proporcionando diminuição de tempo e custo que estão relacionados no processo de desenvolvimento de novos medicamentos (MORGON; COUTINHO, 2007).

Desta forma, o presente trabalho visou avaliar *in silico* o potencial antidepressivo e ansiolítico de flavonoides da espécie *Passiflora incarnata* através de suas interações com a monamina oxidase A.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O trabalho tem como objetivo avaliar as interações de flavonoides da espécie *P. incarnata* na enzima monoamina oxidase A humana, com potencial ação ansiolítica e antidepressiva, através do método de *docking* molecular.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

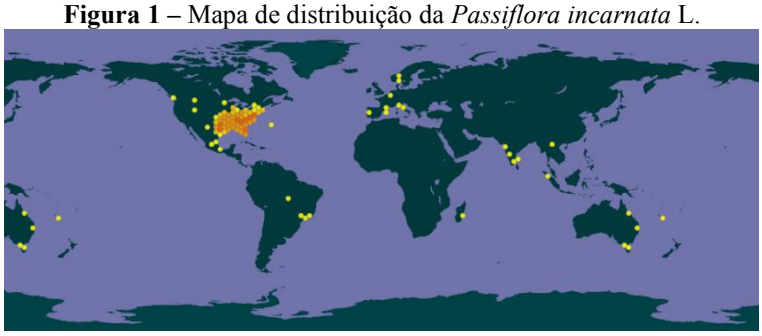
- Realizar um levantamento dos flavonoides da *P. incarnata* L.
- Avaliar por *docking* molecular as interações entre as estruturas de flavonoides contidos na *P. incarnata* e a enzima monoamina oxidase A à fim de obter suas energias de ligação;
- Identificar os resíduos de aminoácidos envolvidos nessas ligações entre os ligantes e o receptor;
- Analisar as principais interações intermoleculares que resultam na formação do complexo proteína-ligante.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 CONSIDERAÇÕES SOBRE A *PASSIFLORA INCARNATA* L.

A *Passiflora incarnata* L. é uma das espécies do gênero *Passiflora* pertencente à família Passifloraceae. Ela se apresenta em vários lugares do planeta (Figura 1) como na América do Sul, Austrália, Europa e Sudeste Asiático, sendo mais presente na America do Norte. É uma espécie que vem sendo cultivada nos últimos anos como fornecedora de matéria-prima para produtos de uso farmacêutico (JANDA et al, 2020; CAMPOS, 2015).

Figura 1 – Mapa de distribuição da *Passiflora incarnata* L.



Fonte: https://www.gbif.org/species/2874218

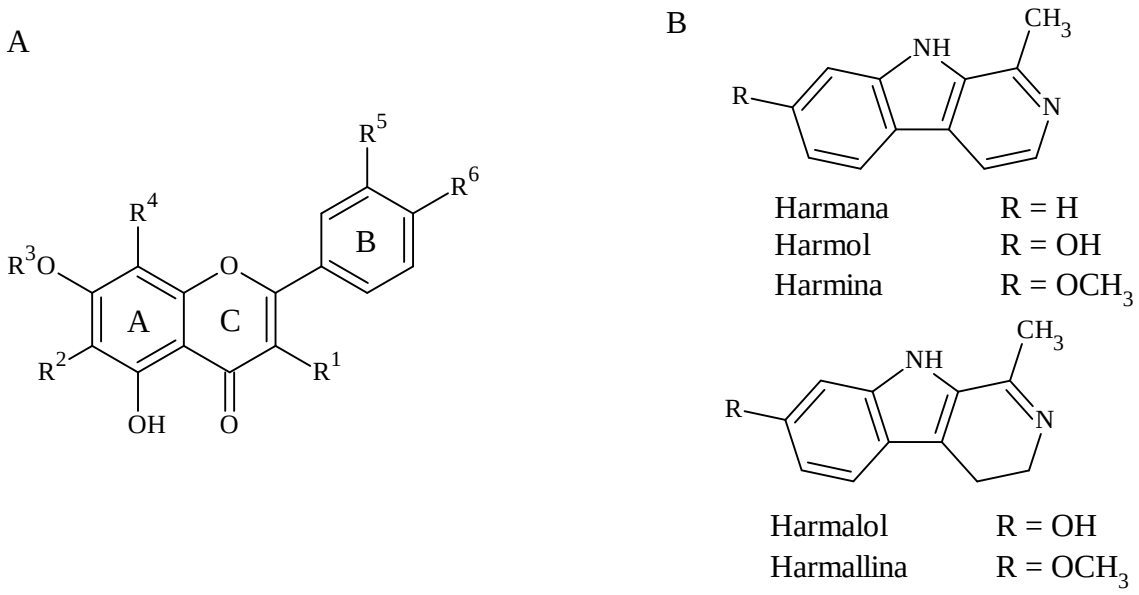
A *P. incarnata* é descrita na literatura como uma planta rasteira perene sustentada por meio de gavinhas auxiliares. Suas folhas são alternadas, palmadas apresentando de três a cinco lóbulos serrados (Figura 2). As flores dessa espécie são largas, solitárias, com pendúnculos longos, esbranquiados, com corola roxa e coroa rosa. Ela também apresenta frutos com formato oval cheios de sementes (BRASIL, 2015).

Figura 2 – Folhas e flor da *Passiflora incarnata* L.

Fonte: https://www.inatu.../photos/189968130

Os principais metabólitos presentes nesta espécie são: flavonoides, saponinas, cumarinas, alcaloides, heterosídeos, fitoesterois e ácidos fenólicos. Sendo os flavonoides e alcaloides (Figura 3) as classes mais estudadas, pois são de maior interesse para a indústria farmacêutica e cosmética (AMARAL, 2018; OLIVEIRA et al, 2020).

Figura 3 – Estruturas das classes de flavonoides e alcalóides presentes na *P. incarnata*



A: Núcleo básico de flavonoides, **B:** Alcalóides indólicos

Fonte: Adaptado de Amaral (2018)

A espécie vem sendo bastante estudada devido a sua demosntração de muitas propriedades terapêuticas, onde suas partes aéreas como folhas, flores e frutos são utilizadas para fins medicinais (OLIVEIRA et al., 2020).

O uso popular da *P. incarnata* abrange muitas enfermidades, conforme apresentado na tabela 1. Essa espécie apresenta atividades neurofarmacológicas, além disso, autores relatam que a utilização da espécie apresentou atividades anti-helmínticas, antiespasmódicas, ansiolíticas, antidiarreicas, antiflamatórias, sendo ainda usada no tratamento de queimaduras, hemorródias, analgésico, disturbios neuróticos, insonia, tratamento da dependência de morfina, sendo também útil como anticonvulsionante (JANDA et al., 2020; OLIVEIRA et al., 2020).

Segundo Lacerda et al. (2019), flavonoides possuem atividades farmacológicas importantes no sistema nervoso central, o que ajuda modular vias importantes no que se relaciona a muitos transtornos psiquiátricos, sendo uma fonte promissora de moléculas com atividades ansiolíticas e com potencial para serem testados contra transtornos de ansiedade.

Além disso, Hrircu (2017) e Carvalho (2018), ainda citam propriedades antidepressivas advindos de flavonoides.

Tabela 1 – Uso popular da espécie *P. incarnata*

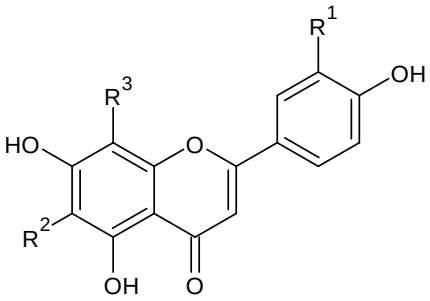
Nomenclatura	Parte utilizada	Atividade
Passiflora *incarnata* L.	Droga pulverizada (Parte indeterminada)	Tratamento de distúrbios do sono, ação sedativa e ansiolítica
	Partes aéreas	Hemorródia, Azia, inflamações na pele
	Folhas	Alívio de lesões tópicas, antitumoral, antioxidante, neurofarmacológica (ansiolítico e antidepressíva)
	Não descrito	Imunomoduladora, neurofarmacológica, antitrombótica, antioxidante, vasoativa, antidiarreico, anticonvulcionante, antiespasmódico, anti-helmíntincos
	Planta inteira	Anticancerígena, antioxidante
	Erva	Antibacteriana
	Frutos	Antioxidante
	Caule	Neurofarmacológica (ansiolítico e antidepressíva)
	Flores	Neurofarmacológica
	Bagaço do fruto	Microbiana (utilização como adubo)
	Planta inteira sem as raízes	Neurofarmacológica

Fonte: Adaptado de Brasil (2021), Janda et al. (2020) e Oliveira et al. (2020)

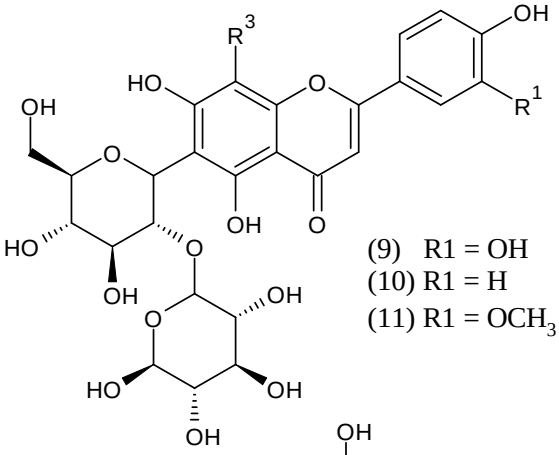
Os principais flavonoides para *P. incarnata* são os do tipo *C*-glicosilados, provenientes das agliconas de luteolina e apigenina (BRASIL, 2021). Entretanto, existe uma grande variedade de flavonoides encontrados nas folhas dessa espécie, podendo ser destacados os flavonoides: Orientina (1), Isoorientina (2), Lucenina-2 (3), Vitexina (4), Isovitexina (5), Vicenina-2 (6), Schaftosídeo (7), Isoschaftosídeo (8), Isoorientina-2''-O-Glicosídeo (9), Isovitexina-2'-O-Glicosídeo (10), Isoscaparina-2''-O-Glicosídeo (11), Apigenina-7-O-Glicosídeo (12), Luteolina-7-O-Glicosídeo (13), Hiperosídeo (14), Saponarina (15), Swertisina (16), Apigenina (17), Luteolina (18), Quercetina (19), Canferol (20), Crisina (21) e 2''-xilosil-vitexina (22) (DAHAWAN et al., 2004; MARTINS, 2009; PEREIRA, 2014; BRASIL, 2021).

As estruturas desses 22 flavonoides presentes na *P. incarnata* estão apresentadas na figura 4.

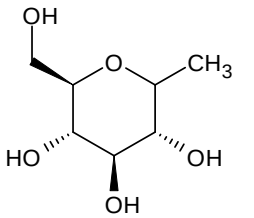
Figura 4 – Principais flavonoides presentes na *P. incarnata* L.



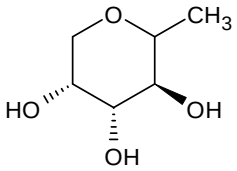
(1) R1 = OH	R2 = H	R3 = Glicose
(2) R1 = OH	R2 = Glicose	R3 = H
(3) R1 = OH	R2 = Glicose	R3 = Glicose
(4) R1 = H	R2 = H	R3 = Glicose
(5) R1 = H	R2 = Glicose	R3 = H
(6) R1 = H	R2 = Glicose	R3 = Glicose
(7) R1 = H	R2 = Glicose	R3 = Arabinose
(8) R1 = H	R2 = Arabinose	R3 = Glicose



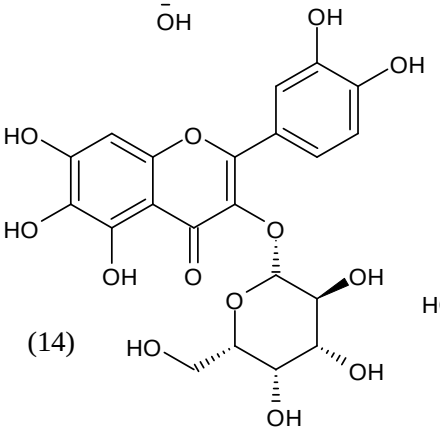
(9) R1 = OH
(10) R1 = H
(11) R1 = OCH_3



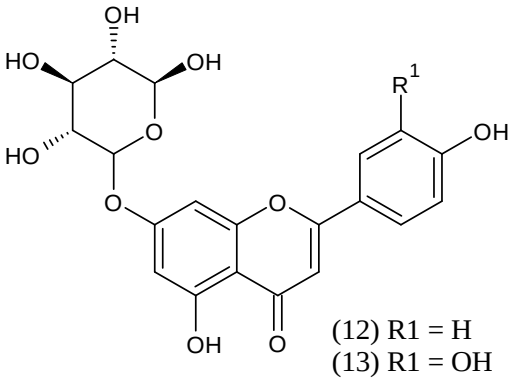
Glicose



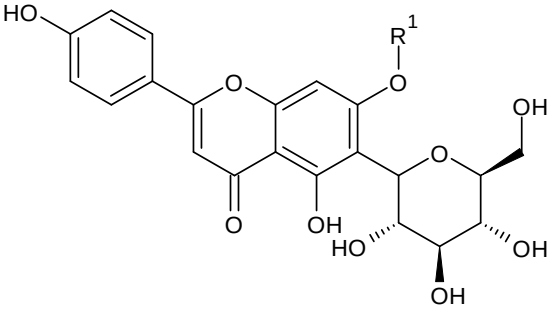
Arabinose



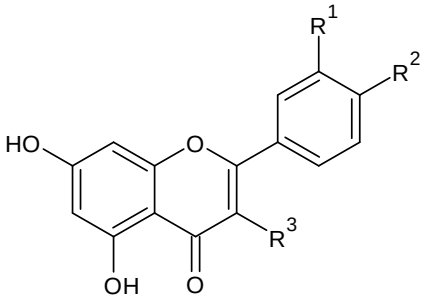
(14)



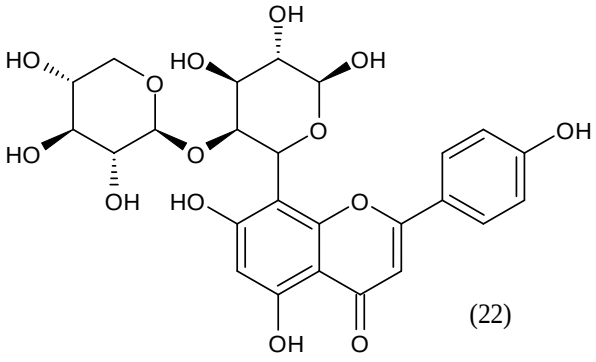
(12) R1 = H
(13) R1 = OH



(15) R1 = Glicose
(16) R1 = CH_3



(17) R1 = H R2 = OH R3 = H
(18) R1 = OH R2 = OH R3 = H
(19) R1 = OH R2 = OH R3 = OH
(20) R1 = H R2 = OH R3 = OH
(21) R1 = H R2 = H R3 = H



(22)

Fonte: Elaboração própria (2023)

3.2 MONOAMINA OXIDASE COMO ALVO TERAPÊUTICO

A monoamina oxidase (MAO) é uma enzima contendo a coenzima flavina-adenosina-dinucleotídeo (FAD) localizada na membrana mitocondrial externa. Ela atua na catalização da desaminação oxidativa (Reação 1) de monoaminas endógenas e exógenas. Ou seja, a MAO atua na regulação dos níveis de aminas biogênicas presentes nos tecidos (CANTO, 2014; LIMA, 2019).

$$RCH_2NH_2 + H_2O + O_2 \rightarrow RCHO + NH_3 + H_2O_2 \quad \text{(Reação 1)}$$

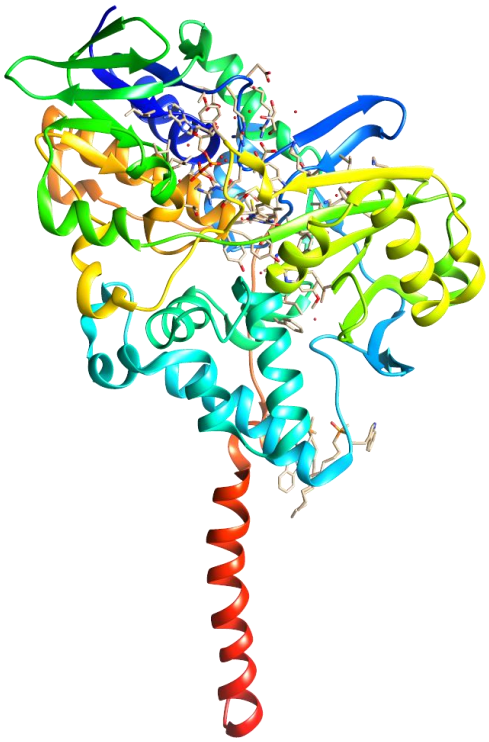
Entre os principais substratos que são catalizados pela MAO encontram-se monoaminas endógenas como os neurotransmissores dopamina, serotonina, norepinefrina, tiramina e triptamina e as aminas exógenas, como a neurotoxina 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetra-hidropiridina (MPTP) (FOLLMER, NETTO, 2013).

A MAO é encontrada como duas isoformas sendo elas MAO-A e a MAO-B, apresentando 70% de suas sequências de aminoácidos idênticas, se distinguindo quanto a especificidade ao substrato e à inibição (SON et al*.,* 2008).

Uma redução dos níveis de atividade de MAO resulta em um aumento nas concentrações de certos neurotransmissores no cérebro. Desta forma, a atuação de inibidores dessas isoformas podem atuar como um potencializador da concentração de seus substratos. Inibidores da MAO-A são particularmente empregados no tratamento da depressão e da ansiedade enquanto os inibidores da MAO-B são usados particularmente no tratamento da doença de Parkinson e do Alzheimer (FOLLMER, NETTO, 2013; LIMA, 2019).

Son e colaboradores (2008) relataram em seu trabalho a estrutura da MAO-A complexada com um inibidor específico e reversível dessa isoforma, a harmina, por meio de técnica cristalográfica de raios-x com resolução de 2.2 Å, conforme mostrada na figura 5. A MAO-A possui apenas uma cavidade para o substrato, sendo seu tamanho de 550 Å, sendo posicionada na entrada do sítio ativo (FOLLMER, NETTO, 2013; CANTO, 2014).

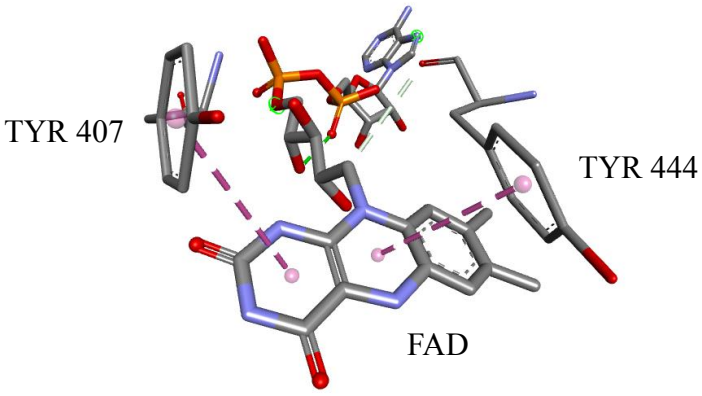
Figura 5 – Estrutura cristalográfica da monoamina oxidase A (PDBid: 2Z5X)



Fonte: Adaptado de SON, et al, 2008

Na cavidade do sítio ativo estão presentes os aminoácidos tirosina 407 e 444, que estão posicionadas perpendicularmente junto á coenzima FAD, elas juntas permitem que as cadeias laterais fenólicas formem uma cavidade conhecida como gaiola aromática. Essa região é muito importante no reconhecimento dos substratos e, consequentemente, na interação com possíveis inibidores (FOLLMER, NETTO, 2013; CANTO, 2014). Esta cavidade está representada na figura 6.

Figura 6 – Gaiola aromática envolvendo os resíduos TYR 407, TYR 444 e a FAD na MAO-A



Fonte: Elaboração própria (2023)

Canto (2014) descreve em seu trabalho os principais resíduos de aminoácido presentes no sítio ativo dessa macromolécula (Tabela 2). Os resíduos TYR 444, TYR 407 e a coenzima FAD, como citado anteriormente, fazem parte da chamada gaiola aromática que é um setor muito importante no reconhecimento de substratos e inibidores.

Tabela 2 – Sítio ativo da Monoamina Oxidase A e características dos resíduos

Resíduos	Característica
TYR 69, PHE 208, PHE 352, TYR 407 E TYR 444	Aromáticos
VAL 91, VAL 93, LEU 97, ILE 180, ILE 207, VAL 210, ILE 335, LEU 337, MET 350	Hidrofóbicos
GLN 74, ASN 181, SER 209, CYS 323	Hidrofílicos
GLU 216	Ácido
FAD	Coenzima

Fonte: Adaptado de Canto (2014)

Conforme apresentado, o sítio de ligação dessa enzima tem um caráter hidrofóbico, sendo esses aminoácidos importantes pois através deles existem interações específicas favorecendo ou não as ligações com com os substratos ou inibidores.

3.3 *DOCKING* MOLECULAR

O *docking* molecular é um método *in silico* que utiliza ferramentas computacionais atrelados a conceitos de química teórica como apoio em análises e interpretação de dados experimentais. Essa técnica possui uma grande importância no planejamento racional de fármacos, pois envolve análise de conformações de sistemas como os do tipo proteína rígida-ligante flexível abordadas nesse estudo (SOUZA, 2015).

Segundo Souza (2015), a energia de ligação entre o fármaco e o sítio ativo provém da composição química dos grupos funcionais presentes na molécula bioativa e da conformação tridimensional destes grupos. Este modelo fornece estimativas da energia livre de ligação entre a proteína e o ligante. Por meio dessa estimativa pode-se averiguar as melhores conformações (poses) que o ligante interage com a proteína, averiguando a menor energia de ligação com as interações intermoleculares existentes no complexo.

Para mensurar a energia livre de ligação inicialmente é prevista a variação da energia intramolecular das moléculas isoladas, em seguida é avaliada a variação de energia intermolecular resultante da formação do complexo proteína-ligante (RODRIGUES, 2019).

As principais interações intermoleculares existentes entre ligantes candidatos a fármacos com proteínas alvo são as do tipo dipolo-dipolo induzido e permanente, sendo uma

das mais fortes as ligações de hidrogênio e as mais fracas, mas importantes, interações de Van Der Waals e interações hidrofóbicas. A energia de ligação final é o somatório das energias obtidas através dessas interações do complexo analisado (BARREIRO e FRAGA, 2014).

A metodologia de ancoragem molecular permite a montagem do experimento através de quatro maneiras: ligante rígido e proteína rígida, ligante rígido e proteína flexível, ligante flexível e proteína rígida, e ligante flexível e proteína flexível. Quanto mais opções de flexibilidade, mais funções ou variáveis são incluídas para os cálculos, mais longo e complexo computacionalmente fica o experimento (SOUZA, 2015).

Pereira Júnior (2021), descreve em seu trabalho que o cálculo que envolve a atividade biológica dos ligantes com seus receptores envolve o algoritmo de busca e uma função de *score*. O primeiro, algoritmo de busca, um método de busca no espaço conformacional disponível combinando ligações, explorando graus de liberdade conformacional, rotacional e translacional do ligante e da proteína. O segundo, a função de *score*, que avalia em termos energéticos cada modo de ligação, sendo regidas de acordo com o campo de força de mecânica molecular e parâmetros empíricos de cálculo de energia livre (LEONHART; NARLOCH; DORN, 2019).

Esses componentes são responsáveis por averiguar as conformações e orientações dos ligantes no sítio ativo da proteína alvo, gerando os valores de afinidade de ligação entre as conformações geradas. Essa afinidade de ligação é gerada através de características estruturais e físico-químicas do ligante e do receptor associadas as interações intermoleculares que participam do processo de complexação (VERLI, 2014).

O grau de afinidade e a especificidade da ligação ligante-receptor são determinadas por interações intermoleculares que compreendem forças eletroestáticas, como as ligações de hidrogênio, dipolo-dipolo, íon-dipolo, ligações covalentes e interações hidrofóbicas.

O cálculo de energia livre do sistema é calculado através da subtração da energia livre do complexo com as energias livres do ligante e da proteína (Equação 1).

$$\Delta G = G_{COMPLEXO} - \left(G_{Proteína} - G_{Ligante}\right) \qquad \text{Equação 1.}$$

A contribuição da energia livre da proteína e do ligante (Equação 2) é apresentado pela diferença entre a energia interna da molécula (U) com o produto da temperatura absoluta do sistema (T) e a entropia da molécula estudada (S).

$$G = U - TS \qquad \text{Equação 2.}$$

4 METODOLOGIA

4.1 REVISÃO DE LITERATURA E SELEÇÃO DO RECEPTOR

A pesquisa desenvolveu-se através da composição de referencial teórico tomando como base bibliografias da área de química medicinal, química dos produtos naturais, fitoquímica, entre outras áreas desenvolvidas por pesquisadores nacionais e internacionais.

Através de ferramentas de busca como Periódicos Capes, Scielo, Elsevier e Web of Science, foi realizado um levantamento de artigos científicos com modelos das estruturas de flavonoides existentes na *P. incarnata* L. que poderiam ser usados no docking molecular com o intuito de verificar os efeitos de sua ligação com o receptor.

A estrutura da enzima analisada foi obtida por meio da pesquisa no banco de dados *Research Collaboratory of Structure Bioinformatics Protein Data Bank* (RCSB PDB). A estrutura cristalográfica selecionada priorizou por sua resolução, sendo encontrada através do código de identificação 2Z5X, com resolução 2.2 Å. Ela é apresentada como a monoamina oxidase A humana (MAO-A) contendo ligantes co-cristalizados. Sua estrutura foi obtida através do método de Difração de Raios-X (DRX).

4.2 TRATAMENTO DO RECEPTOR

Foram retiradas da macromolécula as moléculas de água e dos artefatos existentes na proteína, além do ligante co-cristalizado utilizando o programa Discovery Studio. A harmina co-cristalizada foi retirada do receptor e salva em formato *.pdb*, onde através do mesmo programa, foi adicionado os hidrogênios polares a sua estrutura. Por realizar interações estruturais importantes no sítio ativo da macromolécula, a coenzima FAD foi mantida no complexo durante o procedimento do docking molecular. Usando o programa *AutoDockTools* foram adicionadas as cargas de Gasteiger, logo em seguida o arquivo foi salvo no formato *pdbqt*.

4.3 VALIDAÇÃO DO MÉTODO DE *DOCKING* MOLECULAR POR REDOCKING

O método de docking molecular é uma técnica *in silico* que consiste no ancoramento de um ligante com seu alvo. Ele pode se apresentar como um ancoramento proteína-proteína ou como ligante-proteína. Métodos computacionais como esse precisam passar por um método de validação que possa dar segurança no que se diz respeito a replicação da pose biológica. Ou

seja, o método validado consegue replicar *in silico* a pose biológica de um ligante co-cristalizado no sítio ativo de ligação.

Para validação da metodologia do *docking* molecular utilizada neste trabalho, foi realizado o método de re-docking. O método consiste em submeter o próprio ligante co-cristalizado da estrutura do complexo ao docking para tentar reproduzir o acoplamento original no sítio ativo em estudo (GUERRA, 2019).

Para isso, o complexo receptor - ligante redocado[1] foi inserido no programa *Discovery Studio*, onde foi sobreposto com o receptor extraído do *Protein Data Bank*. Logo após, todas as estruturas foram retiradas deixando apenas os ligantes co-cristalizado e o redocado, logo em seguida avaliou-se o RMSD entre as estruturas. Desta forma, foi aceito como metodologia validada o resultado que apresentar valores de RMSD ≤ 2,0 Å em relação a estrutura co-cristalizada experimental (MORGON; COUTINHO, 2007).

4.4 TRATAMENTO DOS LIGANTES

Foram selecionadas 22 moléculas de flavonoides presentes na *P. incarnata* L (Quadro 1). Todas foram desenhadas através do programa *MarvinSketch* onde foram adicionados os hidrogênios explícitos e logo em seguida convertidas em três dimensões (3D). Essas moléculas foram otimizadas para a conformação de menor energia utilizando o campo de força MMFF94 no mesmo programa. Após esse procedimento, as moléculas foram salvas no formato *.pdb*.

Quadro 1 – Flavonoides presentes na *P. incarnata* que foram usados no *docking* molecular

Orientina	Apigenina-7-O-Glicosídeo
Isoorientina	Luteolina-7-O-Glicosídeo
Lucenina-2	Hiperosídeo
Vitexina	Saponarina
Isovitexina	Swertisina
Vicenina-2	Apigenina
Schaftosídeo	Luteolina
Isoschaftosídeo	Quercetina
Isoorientina-2''-O-Glicosídeo	Canferol
Isovitexina-2''-O-Glicosídeo	Crisina
Isoscaparina-2''-O-Glicosídeo	2''-xilosil-vitexina

Fonte: Elaboração própria (2023)

[1] O termo redocado refere-se a um ligante que passou pelo processo de redocking.

4.5 DOCKING MOLECULAR

Após as otimizações no receptor e nos ligantes, o docking foi realizado utilizando o programa *Autodock Vina* acoplado ao software *PyRx*. As dimensões da gridbox foram na ordem de 25.0000 Å, nas coordenadas X: 40.5820, Y: 26.9310 e Z: -14.5468. Todos os valores de energia livre resultantes do docking estão presentes no Apêndice A.

4.6 ANÁLISE DOS RESULTADOS

Após a realização do *docking*, as estruturas dos flavonoides nas conformações mais estáveis foram individualmente inseridas ao receptor 2Z5X tratado no software *Chimera*, os arquivos dos complexos foram salvos no formato *.pdb*. As interações envolvidas entre o sítio ativo das macromoléculas com os ligantes foram avaliadas através do programa *Discovery Studio*.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 VALIDAÇÃO DO MÉTODO POR *REDOCKING MOLECULAR*

O procedimento de docking foi validado através do redocking molecular do ligante co-cristalizado harmina (HRM) com a macromolécula 2Z5X, onde essa interação apresentou uma energia livre de ligação (ΔG^o) de -8,2 kcal/mol com um RMSD de 0,8609 (Tabela 3), frequentemente medidas de RMSD abaixo de 2 Å são usadas como critério para a previsão correta da estrutura ligada, isso significa que a função de pontuação utilizada pelo programa autodock vina no software PyRx é adequada para a metodologia abordada.

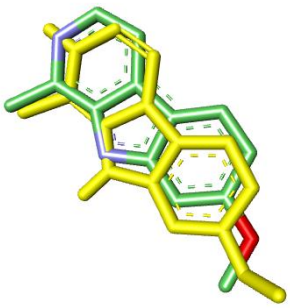
Tabela 3 – Informações referentes ao redocking molecular

Ligante	Proteína (PDBid)	RMSD	Energia Livre
Harmina (HRM700)	MAO-A (2Z5X)	0,8609	-8,2 kcal/mol

Fonte: Elaboração própria (2023)

A pose replicada através dos cálculos de *docking* apresentou uma energia de ligação favorável, o que mostra a espontaneidade da ligação entre a harmina e o sítio ativo da Monoamina Oxidase A.

Figura 7 – Sobreposição entre a harmina cocristalizada (em verde) com a redocada (em amarelo)



Fonte: Elaboração própria (2023)

As interações entre a proteína e o ligante redocado apresentou similaridade nas interações, o que era esperado devido ao valor do RMSD ter sido baixo. Essa similaridade valida o método utilizado, possiblitando utilizar outros ligantes para a avaliação do docking molecular com a MAO-A.

5.2 RESULTADOS DO DOCKING MOLECULAR DOS FLAVONOIDES DA *PASSIFLORA INCARNATA*

Dos cálculos realizados para as 22 moléculas de flavonoide da *P. incarnata* L. apenas 10 apresentaram afinidade de ligação como sítio ativo da MAO-A. Deles observou-se que os flavonoides apigenina, crisina, canferol, luteolina e quercetina, apresentaram melhores valores de energia ligação com o alvo 2Z5X em relação a energia de ligação extraída através da redocagem do ligante co-cristalizado harmina (-8,2 kcal/mol). Os valores de energia estão expressos na tabela 4, ranqueados da menor energia de ligação para a maior.

Tabela 4 – Ranqueamento da afinidade de ligação dos 10 flavonoides e da HRM redocada com menores energia de ligação com o receptor 2Z5X

Ligantes	**Energia de ligação (ΔG° kcal/mol)**
Apigenina	-9,6
Crisina	-9,5
Canferol	-9,1
Luteolina	-8,7
Quercetina	-8,4
Harmina (redocking)	-8,2
Apigenina-7-O-Glicosídeo	-5,3
Luteolina-7-O-Glicosídeo	-4,5
Isovitexina	-1,3
Isoorientina	-1,1
Swertisina	-0,8

Fonte: Elaboração própria (2023)

Valores negativos de energia de ligação, como os presentes na tabela 3, representam uma espontaneidade na ligação entre os ligantes e o receptor 2Z5X, sendo a apigenina (-9,6 kcal/mol) apresentando uma maior afinidade de ligação do que os outros flavonoides listados.

Os flavonoides glicosilados como a apigenina-7-O-glicosídeo, luteolina-7-O-glicosídeo, isovitexina, isoorientina e swertisina apresentaram energia de ligação maiores do que o ligante co-cristalizada harmina. Por apresentarem energias maiores, elas tiveram uma afinidade de ligação mais fracas com o receptor comparado aos outros flavonoides.

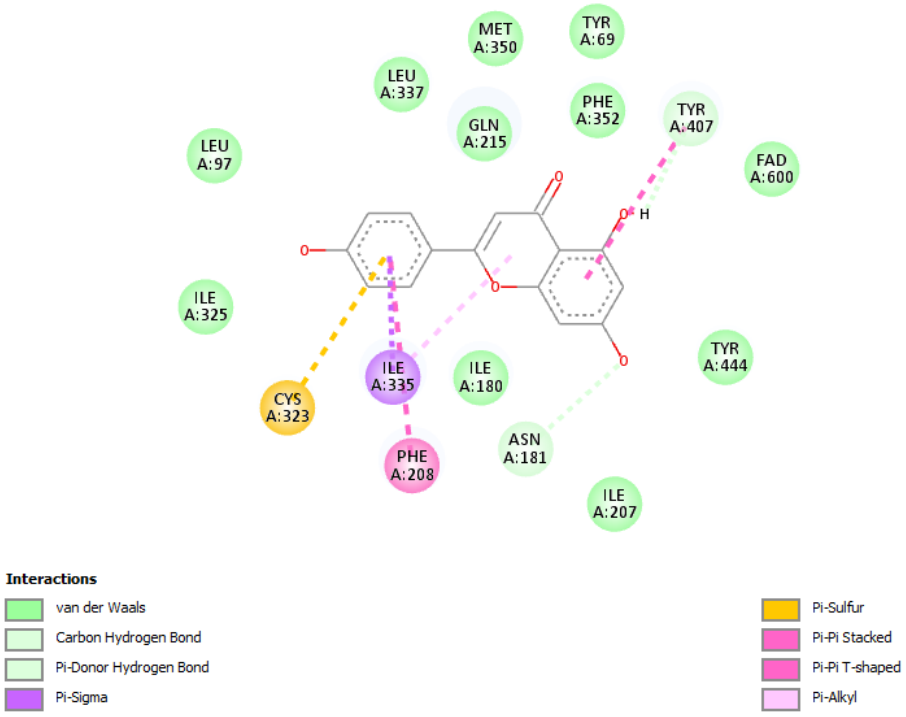
5.3 RESULTADOS DO *DOCKING MOLECULAR* E ANÁLISE DAS INTERAÇÕES

5.3.1 Interações envolvendo o flavonoide apigenina e a macromolécula 2Z5X

O resultado obtido a partir do *docking* molecular entre o flavonoide apigenina e o alvo molecular 2Z5X, macromolécula da Monoamina Oxidase-A, apresentou energia de ligação de -9,6 Kcal/mol. Este valor representa uma afinidade de ligação com o sítio ativo da proteína.

As principais interações existentes neste complexo foram do tipo empilhamento π e T, além de algumas interações de Van Der Waals, conforme apresentadas na figura 8.

Figura 8 – Interações existentes entre a apigenina e os resíduos de aminoácido no sítio ativo da MAO-A



Fonte: Elaborado pelo autor (2023)

Os resíduos da gaiola aromática TYR 407 e TYR 444, além do coenzima FAD interagem com a apigenina com interações de Van Der Waals, e a TYR 407 ainda faz uma interação dipolo-dipolo do tipo empilhamento- π com o anel aromático do flavonoide. A energia de interação quando os sistemas π estão deslocados em paralelo ou em forma de T é de aproximadamente -2,50 kcal/mol (FOKOUE et al., 2020). Essas interações com os resíduos da gaiola aromática envidenciam um ancoramento no sítio ativo no setor de reconhecimento de substrato da enzima.

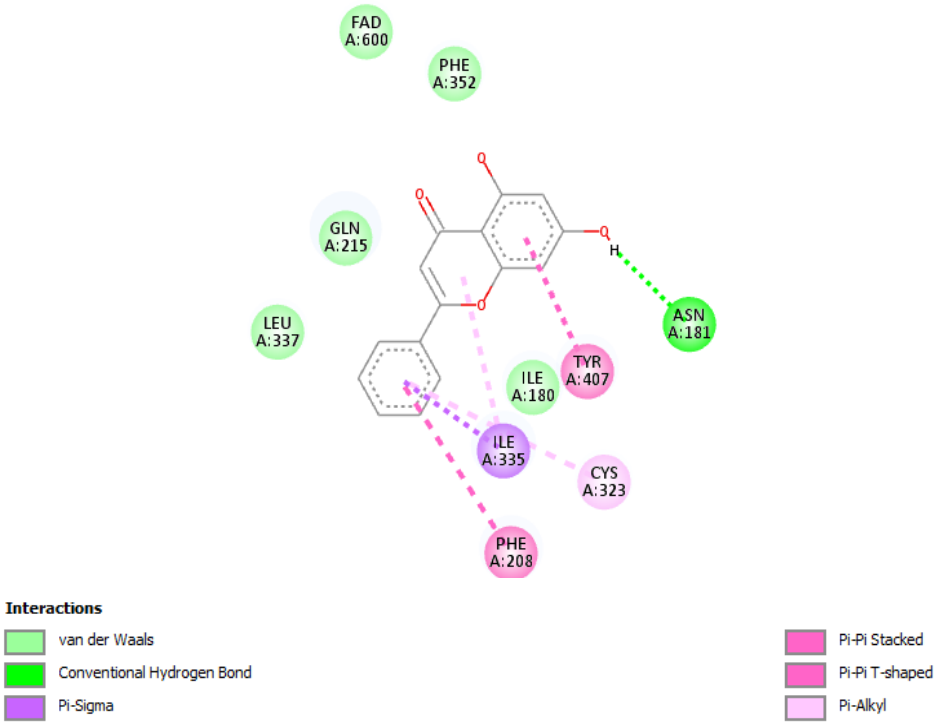
Apesar de não existir ligações fortes como a do tipo ligação de hidrogênio, a grande quantidade de interações fracas ajudaram a diminuir a entropia do sistema o que gerou uma alta afinidade de ligação comparada aos outros complexos.

5.3.2 Interações envolvendo o flavonoide crisina e a macromolécula 2Z5X

Analisando os resultados referentes ao flavonoide crisina, percebe-se que ela possui afinidade com o sítio ativo da MAO-A. Sua energia de ligação de -9,5 Kcal/mol, é originada através das interações realizadas entre os resíduos de aminoácidos com ela. As principais interações observadas para esse complexo (Figura 9) são do tipo empilhamento π e T, ligação de hidrogênio e ligações de Van der Waals.

Quando comparada com o flavonoide apigenina, a percebe-se a crisina possui uma interação forte do tipo ligação de hidrogênio no resíduo ASN 181, interação esta que não está presente no complexo apigenina-2Z5X. Isso se deve a quantidade de interações de Van der Waals observadas no primeiro complexo, que apesar de fracas, ajudam na estabilização do complexo. Assim, a crisina consegue uma afinidade de ligação muito alta comparada ao ligante co-cristalizado harmina, que é um inibidor reversível da monoamina oxidase A.

Figura 9 – Principais interações entre a crisina e a macromolécula 2Z5X



Fonte: Elaborado pelo autor (2023)

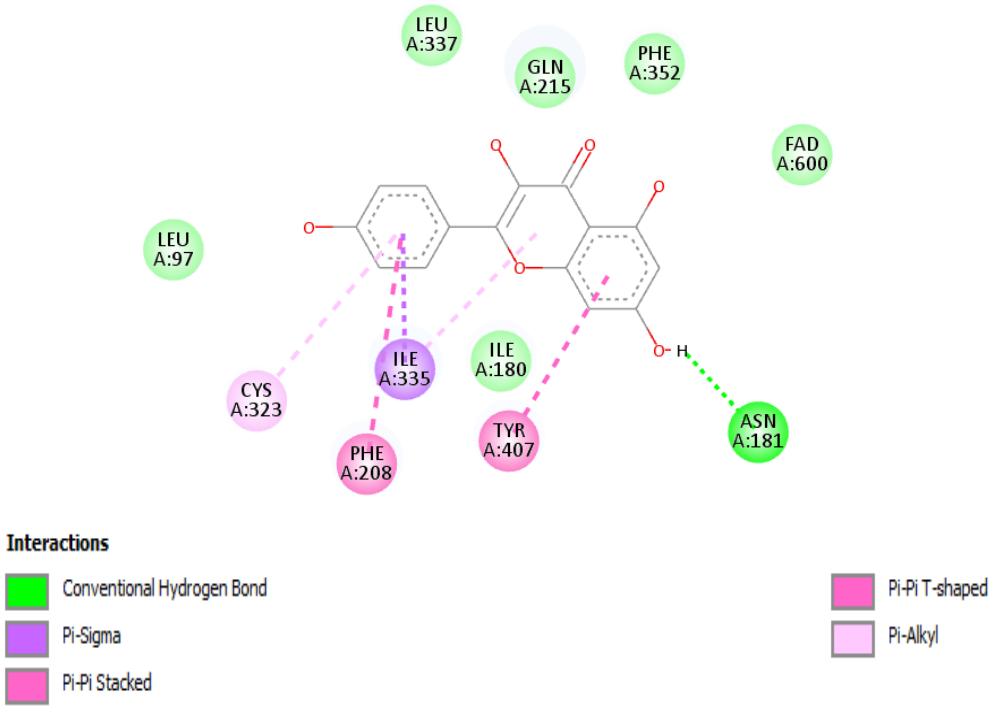
Ela, assim como a apigenina, consegue interagir com resíduos da gaiola aromática, como a TYR 407 e a coenzima FAD 600. A TYR consegue se liga a este flavonoide com uma ligação aromática do tipo empilhamento de eletrons enquanto a FAD ajuda na diminuição da entropia do sistema por meio de uma interação de Van der Waals.

Além da ligação de hidrogênio no resíduo ASN 181, As principais interações envolvidas nesse complexo são aromáticas como as realizadas pelos resíduos TYR 407, PHE 208, CYS 323, ILE 335, além das interações do tipo Van Der Waals pelos resíduos ILE 180, GLN 215, LEU 337 e PHE 352 e a coenzima FAD 600. Embora ela possua uma ligação forte de hidrogênio, a falta de mais ligações de Van der Waals, não ajudou no aumento da afinidade de ligação do complexo.

5.3.3 Interações envolvendo o flavonoide canferol e a macromolécula 2Z5X

O resultado extraído do docking molecular do flavonoide canferol evidenciou uma afinidade de ligação com o receptor 2Z5X, assim como a apigenina e a crisina, com energia de ligação de -9,1 Kcal/mol.

Figura 10 – Principais interações entre o canferol e a macromolécula 2z5x



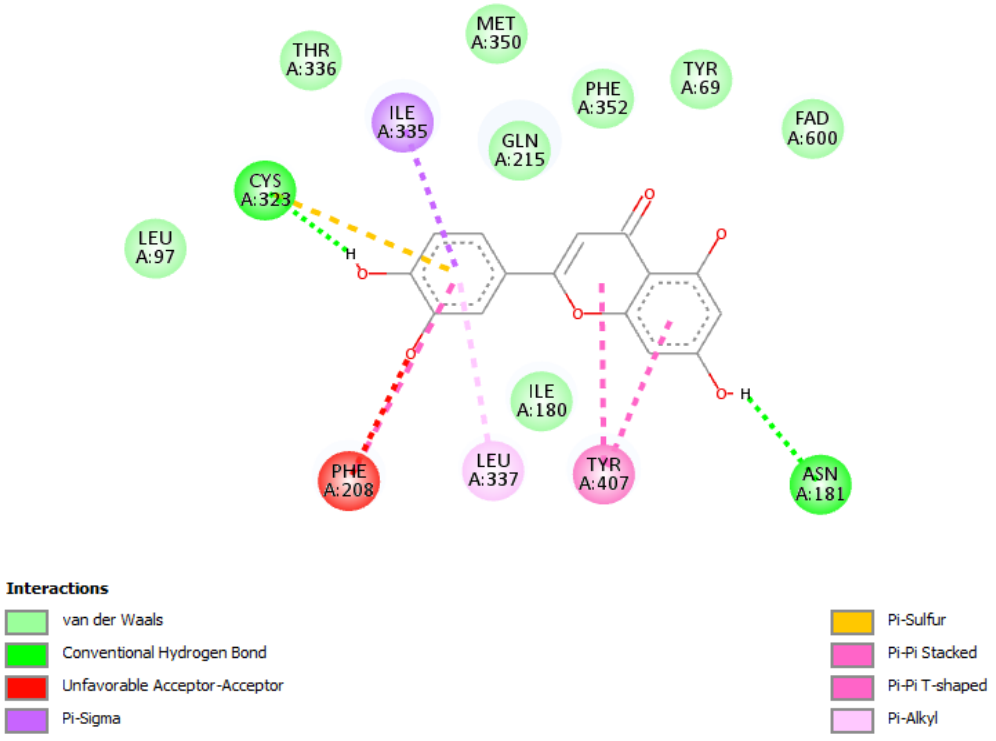
Fonte: Elaboração própria (2023)

A figura 10 apresenta as principais interações envolvidas neste complexo. As principais ligações envolvidas foram ligações aromáticas realizadas entre os aminoácidos PHE 208, TYR 407, CYS 323, ILE 335, interações do tipo Van Der Waals como as realizadas pelos resíduos LEU 97, ILE 180, LEU 337, GLN 215, PHE 352 como a coenzima FAD 600. Além delas, assim como na crisina, observa-se que o canferol interage com a macromolécula por meio do resíduo de aminoácido ASN 181 com uma ligação de hidrogênio.

5.3.4 Interações envolvendo o flavonoide luteolina e macromolécula 2Z5X

Avaliando as interações entre o sítio ativo de ligação da MAO-A com o flavonoide luteolina (Figura 11) que apresentou uma energia livre de ligação na ordem de -8,7 Kcal/mol, percebe-se algumas interações do tipo hidrofóbicas entre os resíduos ILE 335, TYR 407, LEU 337. Além dessas interações pode-se notar duas interações fortes do tipo ligação de hidrogênio entre os resíduos dois resíduos, o primeiro ASN 181 e um segundo CYS 323, este ainda interage com o flavonoide através de uma ligação π-Enxofre.

Figura 11 – Principais interações entre os flavonoides luteolina e a macromolécula 2Z5X



Fonte: Elaborado pelo autor (2023)

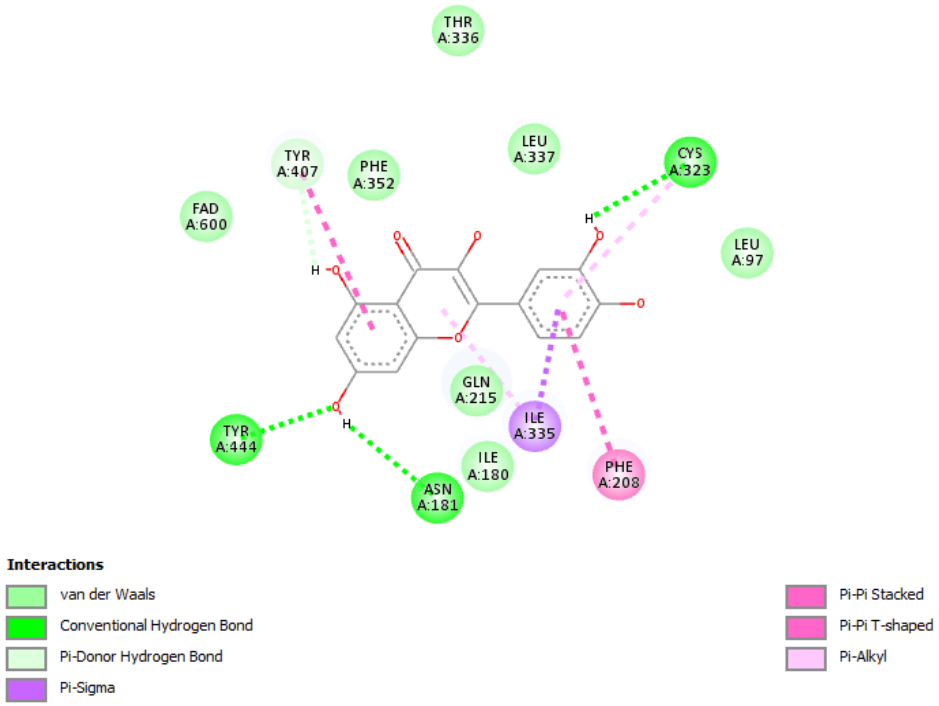
Acerca da figura 11, pode-se observar que ocorrem interações de Van Der Waals no sítio ativo de ligação e uma interação desfavorável do tipo aceitador-aceitador com o resíduo de aminoácido PHE 208 com a hidroxila do anel aromático. Este resíduo ainda realiza uma interação hidrofóbica do tipo empilhamento de eletrons π- π com o mesmo anel.

Essa interação desfavorável indica que para que exista essa ligação o sistema a qual o complexo faz parte deve adicionar energia, o que termodinamicamente significa um aumento na energia de ligação. Devido a isso, mesmo havendo duas interações fortes como as de hidrogênio e algumas intreações fracas que estabilizam o complexo, a luteolina não possui energia de ligação semelhante ao dos flavonoides apigenina, crisina e canferol. Entretanto, ainda apresenta uma afinidade de ligação maior do que a harmina cocristalizada.

5.3.5 Interações envolvendo o flavonoide quercetina e a macromolécula 2Z5X

O estudo também mostrou que a quercetina apresentou afinidade de ligação no sítio ativo de ligação da macromolécula 2Z5X, sendo a energia de ligação do complexo na ordem de -8,4 kcal/mol. Essa afinidade de ligação ocorre devido as interações envolvendo o sítio hidrofóbico da macromolécula com o ligante e as demais interações existentes neste complexo (Figura 12).

Figura 12 – Interações entre o flavonoide quercetina e a macromolécula 2Z5X



Fonte: Elaboração própria (2023)

As interações envolvendo a quercetina e a macromolécula 2Z5X evidenciam a afinidade dos ligantes a macromolécula por ligações hidrofóbicas, como as realizadas pelos resíduos ILE 335 e PHE 208. Além delas, pode-se notar a presença de ligações de hidrogênio entre os resíduos TYR 444, CYS 323 e no resíduo ASN 181, que interagem da mesma forma nos flavonoides crisina e canferol. No sítio ativo também há presença de inerações do tipo Van der Waals como as existentes nos resíduos ILE 180, GLN 215, FAD 600, LEU 97, LEU 337, TYR 407 e PHE 352.

A quercetina consegue fazer ligações na janela de reconhecimento de substrato com interações fracas como as hidrofóbicas (TYR 407) e Van der Waals (FAD 600) e uma interação forte de hidrogênio (TYR 444).

5.3.6 Interações entre os flavonoides glicosilados com a macromolécula 2Z5X

Os flavonoides glicosilados apigenina-7-O-glicosídeo, luteolina-7-O-glicosídeo, isoorientina, isovitexina e swertisina apresentaram energias de ligação maiores do que a ligante co-cristalizado harmina. Entretanto, ainda conseguiram possuir um certo grau de afinidade de ligação com a macromolécula. As interações envolvidas nesses complexos estão apresentadas na figura 13.

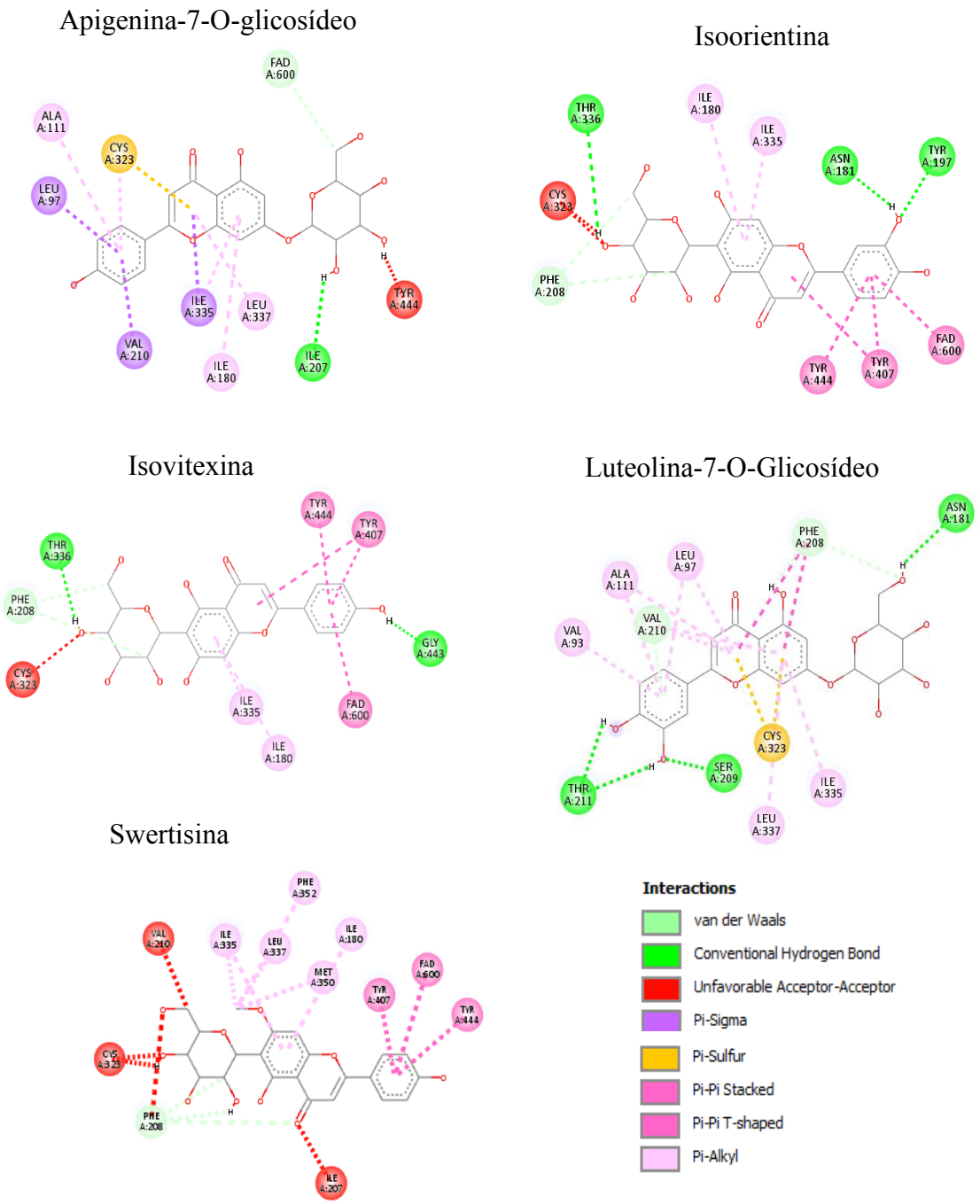
Conforme a figura 13, percebe-se a forma com que essas moléculas interagiram com a proteína. Em todos os cinco flavonoides glicosilados percebe-se que existe a presença de ligações desfavoráveis do tipo ligação de hidrogênio o que indica que o complexo recebeu energia para que esses flavonoides pudessem se estabilizar com a macromolécula. Isso, aliado a não existência de interações de estabilização do complexo como as interações de Van Der Waals, ou a presença de poucas interações fracas como as hidrofóbicas, condicionou esses flavonoides pouca afinidade de ligação com a monoamina oxidase.

A maioria das ligações desfavoráveis presentes nos flavonoides glicosilados estão envolvidas com o grupo de carboidrato presente na estrutura. Ou seja, a presença de açúcares nesses flavonoides aumentou suas energias de ligação, diminuindo a afinidade de ligação com a macromolécula.

Outro ponto que merece destaque são as interações com a gaiola aromática. Nos flavonoides Isoorientina-7-O-glicosídeo, Isovitexina e Swertisina houve uma aproximação entre os seus anéis aromáticos com os dos residuos TYR 444, Try 407 e da FAD 600,

interagindo com essa janela de reconhecimento com interações hidrofóbicas do tipo empilhamento de elétrons. Interações justificáveis devido a natureza hidrofóbica do sítio ativo.

Figura 13 – Interações envolvendo os complexos dos flavonoides glicosilados com a macromolécula 2Z5X



Fonte: Elaboração própria (2023)

5.4 COMPARAÇÃO DOS RESULTADOS

Quando comparadas as interações envolvidas nos complexos proteína-ligante (Tabela 5), nota-se que os flavonoides analisados apresentaram interações em comum quando observadas os resíduos do sítio ativo, principalmente no setor chamado de gaiola aromática, em rosa, que compreende os aminoácidos TYR 444, TYR 407 e a coenzima FAD 600.

Tabela 5 – Interações entre os flavonoides com o receptor 2Z5X e suas respectivas energias de interação

Molécula	**Energia (Kcal/mol)**	**Interações**	
		Tipos	Resíduos
Apigenina	-9,6	Hidrogênio	---
		Hidrofóbica	CYS 323, ILE 335, PHE 208, TYR 407
		Van Der Waals	ILE 325, LEU 97, Val 210, LEU 337, MET 350, GLN 215, TYR 69, PHE 352, FAD 600, TYR 444, TYR 197, ILE 207
Crisina	-9,5	Hidrogênio	ASN 181
		Hidrofóbica	PHE 208, ILE 335, TYR 407, CYS 323
		Van Der Waals	FAD 600, PHE 352, GLN 215, LEU 337, ILE 180
Canferol	-9,1	Hidrogênio	ASN 181
		Hidrofóbica	TYR 407, PHE 208, ILE 335, CYS 323
		Van Der Waals	LEU 97, LEU 337, GLN 215, PHE 352, FAD 600, ILE 180
Luteolina	-8,7	Hidrogênio	CYS 323, ASN 181
		Hidrofóbica	LEU 337, TYR 407, ILE 335, CYS 323
		Van Der Waals	LEU 97, Thr 336, ILE 335, MET 350, GLN 215, PHE 352, TYR 69, FAD 600
		Desfavoráveis	PHE 208
Quercetina	-8,4	Hidrogênio	CYS 323, TYR 444, ASN 181
		Hidrofóbica	ILE 335, PHE 208, CYS 323, TYR 407
		Van Der Waals	ILE 180, GLN 215, FAD 600, PHE 352, Thr 336, LEU 337, LEU 97
Apigenina-7-O-glicosídeo	-5,3	Hidrogênio	ILE 207
		Hidrofóbica	LEU 337, ILE 180, ILE 335, Val 210, LEU 97, Ala 111, CYS 323
		Van Der Waals	FAD 600
		Desfavorável	TYR 444
Luteolina-7-O-glicosídeo	-4,5	Hidrogênio	ASN 181, Ser 209, Thr 211
		Hidrofóbica	ILE 335, LEU 337, LEU 97, Ala 111, Val 93, CYS 323
		Van Der Waals	Val 210, PHE 208
		Desfavorável	---
Isovitexina	-1,3	Hidrogênio	Gly 443, Thy 336
		Hidrofóbica	TYR 444, TYR 407, FAD 600, ILE 335, ILE 180
		Van Der Waals	PHE 208
		Desfavorável	CYS 323
Isoorientina	-1,1	Hidrogênio	TYR 197, ASN 181, TYR 336
		Hidrofóbica	TYR 444, TYR 407, FAD 600, ILE 335, ILE 180

		Van Der Waals	PHE 208
		Desfavorável	CYS 323
Swertisina	-0,8	Hidrogênio	---
		Hidrofóbica	TYR 444, TYR 407, FAD 600, PHE 352, LEU 337, ILE 335, MET 350, ILE 180
		Van Der Waals	PHE280
		Desfavorável	ILE 207, CYS 323, Val 210, PHE 208

CONTINUAÇÃO DA TABELA 5

*Resíduos em rosa representam aminoácidos e coenzima da gaiola aromática do sítio ativo e os vermelhos ligações desfavoráveis do tipo doador-doador ou aceitador-aceitador.

Fonte: Elaboração própria (2023)

Segundo Canto (2014), a MAO-A possui seu sítio ativo com natureza essencialmente hidrofóbica com uma cavidade apresentando um volume de 550 Å. Isso justifica a presença de uma variedade de ligações hidrofóbicas entre todos os complexos apresentados.

Apesar de fracas, as diversas interações de Van Der Waals observadas nos complexos contendo apigenina, crisina, canferol, luteolina e quercetina, bem como a variedade das ligações hidrofóbicas realizadas através do sítio de ligação com os ligantes ajudaram a estabilização dos complexos. A soma das energias advindas dessas interações acarreta contribuições energéticas significativas gerando uma energia que identifica a afinidade entre os flavonoides e a proteína (BARREIRO e FRAGA, 2014).

A *P. incarnata* é uma espécie que possui atividades ansiolíticas, sedativas, antitussígena, antiasmática e antidiabética, sendo mais comumente usada em tratamentos de ansiedade e distúrbios do sono (AMARAL, Juliano Geraldo 2018). Flavonoides dessa espécie como derivados de apigenina e luteolina, apigenina, luteolina, quercetina, crisina e canferol, possuem efeitos importantes no que tange atividades antimicrobianas, antioxidantes, ansiolíticas, antidepressivas e calmantes (LACERDA, Diego de Caldas, et al. 2019). Desta forma destaca-se a atuação de moléculas naturais que podem atuar inibindo essa proteína gerando um efeito antidepressivo e ansiolítico.

Os substratos da MAO-A são serotonina e a noradrenalina que no estado de depressão se encontram em níveis baixos. A atuação de inibidores dessa proteína inibirá a metabolização dessas aminas biogênicas, permitindo o aumento de seus níveis, resultando em um efeito antidepressivo e ansiolítico (CABRITA, 2017; FOLLMER e NETTO, 2013; LIMA, 2019).

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Visando avaliar *in silico* as interações existentes entre flavonoides da *P. incarnata* L. com a proteína Monoamina Oxidase A, 22 moléculas de flavonoides foram dispostas para o estudo através da técnica de *Docking* Molecular onde puderam ser avaliadas pela afinidade de ligação com a macromolécula 2Z5X e interações intermoleculares do complexo.

Observou-se que os resultados sugeriram valores favoráveis para 10 flavonoides, sendo apenas 5 com afinidade de ligação melhores do que o ligante co-cristalizado que apresentou energia de ligação com a macromolécula após o *redocking* de -8,2 kcal/mol.

O estudo *in silico* apresentou os ligantes Apigenina (-9,6 kcal/mol), Crisina (-9,5 kcal/mol), Canferol (-9,1 kcal/mol), Luteolina (-8,7 kcal/mol), e Quercetina (-8,4 kcal/mol) com melhores afinidades de ligação com a macromolécula, seguidos dos flavonoides glicosilados de apigenina-7-O-glicosídeo (-5,3 kcal/mol), luteolina-7-O-glicosídeo (-4,5 kcal/mol), isovitexina (-1,3 kcal/mol), isoorientina (-1,1 kcal/mol) e swertisina (-0,8 kcal/mol).

Todos os complexos apresentaram ligações com resíduos chaves do sítio ativo. As principais interações existentes entre esses complexos foram ligações aromáticas, hidrofóbicas, interações de Van der Waals e ligações de hidrogênio. Todas essas interações contribuíram para a diminuição da energia livre de ligação dos complexos, possibilitando sua estabilização. Todavia, nos flavonoides glicosilados percebe-se que a presença dos carboidratos desfavoreceu a afinidade de ligação entre eles e o receptor.

Desta forma observa-se que os flavonoides apigenina, crisina, canferol, luteolina, quercetina, apigenina-7-O-glicosídeo, luteolina-7-O-glicosídeo, isovitexina, isoorientina e swertisina da *P. incarnata* apresentaram afinidade de ligação com a Monoamina Oxidase A e seu sítio ativo de ligação. Sendo os ligantes glicosilados moléculas com afinidade menor devido a presença de carboidratos a estrutura que resultavam em ligações desfavoráveis.

Sabendo que a inibição da MAO-A pode acarretar efeitos antidepressivos e ansiolíticos, pode-se justificar a utilização dessa espécie para esses tipos de tratamentos. Os resultados apresentados possuem caráter teórico baseados em cálculos *in silico.* Eles sugerem e embasam a realização de experimentos *in vitro* e *in vivo* para avaliar aspectos farmacocinéticos, podem apresentar efeito inibitório diferenciado a avaliações já realizadas.

REFERÊNCIAS

AMARAL, Juliano Geraldo. **Passiflora L. (Passifloraceae)**: estudos fitoquímicos suportados no desenvolvimento de estratégias de cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas. 2018. Tese (Doutorado em Produtos Naturais e Sintéticos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2018.

BARREIRO, Eliezer J; FRAGA, Alberto Manssour. **Química Medicinal:** as bases moleculares da ação dos fármacos. Artmed, 3º ed. 2014.

BORTOLUZZI, Mariana Matos. *et al*. Efeito fitoterápico de plantas medicinais sobre ansiedade: uma breve revisão. **Research, Society and Development**, [S. l.], v. 9, n. 1. p. e02911504, 2020.

BRASIL. **Informações Sistematizadas da Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS :** Passiflora *incarnata* Linnaeus, Passifloraceae (Maracujá-Vermelho). Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia, Inovação e Insumos Estratégicos em Saúde, Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. 2021.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Cartilha de orientações sobre o uso de fitoterápicos e plantas medicinais**. 2022. Disponível em: https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/medicamentos/publicacoes-sobre-medicamentos/orientacoes-sobre-o-uso-de-fitoterapicos-e-plantas-medicinais.pdf. Acesso em 25/01/2023.

CABRITA, Manuel Francisco Varela das Fontes. **O papel dos inibidores da monoamino oxidase nas doenças neurodegenerativas**. 2017. Monografia (Mestrado integrado em ciências farmacêuticas) - Faculdade de Farmácia, Universidade de Lisboa, 2017.

CANTO, Vanessa Petry do. **Estudo computacional das monoaminoxidases A e B com substratos e inibidores**. 2014. Dissestação (Mestrado em Química) – Instituto de Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2014.

CARVALHO, Bernardo Hollanda. **Investigação do Mecanismo de Ação Antidepressivo-smile da quercetina em camundongos por meio de testes comportamentais e neuroquímicos.** Dissertação (Mestrado em Neurociência Cognitiva e Comportamento) Universidade Federal Da Paraíba. 2018.

DE ALBUQUERQUE SIEBRA, Ana Luiza *et al.* Atividade antimicrobiana e caracterização fitoquímica dos extratos hidroalcoólicos de Passiflora cincinnata Mast. (Maracujá-do-mato). **Revista Cubana de plantas medicinales**. [S. l.], v. 19, n. 4, ene. 2015.

DHAWAN, Kamaldeep. *et al.* Antiasthmatic Activity of the methanol Extract of Leaves f *Passiflora incarnata*. **Phytotherapy Research**. [S. l], v. 17. p. 821-822. 2003.

DHAWAN, Kamaldeep. et al. Passiflora: a review update. **Journal of. Ethnopharmacology**. V. 94, n. 1, p. 1-23. 2004.

FERREIRA, Eberto Tibúrcio. *et al.* A utilização de plantas medicinais e fitoterápicos: uma revisão integrativa sobre a atuação do enfermeiro. **Braziliam Journal of health Review**. v. 2, n. 3, p. 1511 – 1523, 2019.

FOKOUE, Harold H. *et al*. Há algo novo no reconhecimento molecular aplicado à química medicinal?. **Química Nova**, v. 43, n. 1, p. 78-89. 2020.

FOLLMER, Cristian; NETTO, Heleno, J. C. Bezerra. Fármacos multifuncionais: monoamina oxidase e α-sinucleína como alvos terapéuticos na doença de parkinson. **Química Nova**. v. 36, n. 2, p. 306-313. 2013.

GUERRA, Thamila Menezes. **ESTUDOS DE DOCKING MOLECULAR DE DERIVADOS DA TIAZOLIDINA COMO POTENCIAIS INIBIDORES DA ENZIMA CRUZAÍNA DE *Trypanosoma cruzi*** . Monografia. UFRPE, Universdade Federal Rural de Pernambuco. Serra Talhada. 2019.

HRITCU, Lucian et al. Antidepressant Flavonoids and Their Relationship with Oxidative Stress. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**. v. 2017, p. 1-18. 2017.

JANDA, Kataezyna, *et al*. *Passiflora incarnata* in neuropsychiatric Disorders – A Systematic Review. **Nutrients**.v. 12, n. 12: 3894. 2020. DOI: https://doi.org/10.3390/nu12123894. Acesso em 27/01/2023.

LACERDA, Diego De Caldas *et al*.. **Flavonóides com atividade ansiolítica: mecanismos de ação e perspectivas de incoporação no manejo dos transtornos de ansiedade**. Anais IV CONAPESC. Campina Grande: Realize Editora, 2019.

LEONHART, Pablo Felipe; NARLOCH, Pedro Henrique; DORN, Márcio. A Self-adaptive Local Search Coordination in Multimeme Memetic Algorithm for Molecular Docking. In: International Conference on Computational Science. **Springer, Cham**, 2019. p. 145-159.

LIMA, Lin Machado de. **Estudo da inibião da monoamina oxidase por novos compostos sintéticos derivados de cumarina**. Dissertação (Programa de Química) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. 2019.

MARTINS, Cristiane Miranda. **Crescimento, nutrientes e teor de vitexina em Passifloraceas em função de fontes de adubação nitrogenada**. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. 2009.

MORGON, Nelson H. COUTINHO, Kaline Rabelo. **Métodos de química teórica e modelagem molecular**. São Paulo. Editora Livraria da Física. p. 539. 2007.

OLIVEIRA, Lucas Martins de, *et al*. Uso da Pssiflora *incarnata* L. no tratamento alternativo do transtorno de ansiedade generalizada. **Research, Society and Devolopment.** v. 9, n. 11, p. e2349119487, 2020. DOI: http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v9i11.9487. Acesso em: 27/01/2023.

PEREIRA JÚNIOR, Paulo Gomes. **Utilização de docking molecular na avaliação do potencial antidiarreico de metabólitos secundários de Psidium Guineense Swartz (Myrtaceae)**. Monografia. UFPB, Centro de Ciências Agrárias. Areia. 2021.

PEREIRA, Sónia Mara Tavares. **O Uso Medicinal da Passiflora *incarnata* L.** Monografia (Mestrado integrado em ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra. 2014.

ROCHA, Luiz Paulo Bezerra da. *et al*. Uso de plantas medicinais: Histórico e relevância. **Research, Society and Development**. [*S. l*.], v. 10, n. 10, p. e44101018282, 2021. DOI: http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i10.18282. Acesso em: 25/01/2023.

RODRIGUES, Lucas Matheus de Souza. **Estudos de docking molecular de derivados tiazóis como potenciais intercaladores de DNA e inibidores da topoisomerase II**. Monografia (Licenciatura em Química) Universidade Federal Rural de Pernambuco, Serra Talhada. 2019.

SÁ-FILHO, Geovan Figueirêdo, *et al.* Plantas medicinais utilizadas na caatinga brasileia e potencial terapêutico dos metabólitos secundários: uma revisão. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 13, p. e140101321096, 2021. DOI: http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i13.21096. Acesso em: 25/01/2023.

SALVADOR, Ruiz. *et al*. Farmacovigilancia de fitofármacos y apifármacos em Cuba durante 2006-2010. **Revista cubana plantas medicinales**. [S. l], v. 18, n. 2, p. 173-186, 2013.

SON, Se-Young *et al*. Structure of human monoamine oxidase A at 2.2-Å resolution: The control of opening the entry for substrates/inhibitors. **PNAS**. v. 105, n. 15, p. 5739-5744. 2008.

SOUZA, Raphael Lopes de. **Aplicação da técnica de ancoragem molecular na otimização do fármaco hipoglicemiante metformina**. Monografia (Trabalho de conclusão de curso de Farmácia), Ciências Farmacêuticas do Centro Universitário Luterano de Palmas. Palmas. 2015.

APÊNDICE A - Tabela contendo energias livre de ligação dos 22 flavonoides presentes na *P. incarnata*

Ligantes	Energia de ligação (ΔGº Kcal/mol)
Apigenina	-9,6
Crisina	-9,5
Canferol	-9,1
Luteolina	-8,7
Quercetina	-8,4
Apigenina-7-O-Glicosídeo	-5,3
Luteolina-7-O-Glicosídeo	-4,5
Isovitexina	-1,3
Isoorientina	-1,1
Swertisina	-0,8
Hiperosídeo	1,3
Orientina	4,4
Vitexina	4,9
Isovitexina-2”-O-Gicosídeo	8,7
Isoorientina-2”-O-Glicosídeo	8,9
Vicenina-2	9,4
Lucenina-2	9,5
Isoscarpina	9,7
Schaftosídeo	11,1
Isochaftosídeo	12,0
Saponarina	12,1
2”-xilosil-vitexina	12,3

Fonte: Elaboração própria (2023)