



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
CURSO DE BACHARELADO EM QUÍMICA**

**AMANDA SABRINA CAMPOS SOARES**

**AVALIAÇÃO *IN SILICO* DO POTENCIAL BRONCODILATADOR DE  
FLAVONOIDES E MONOTERPENOS DE *Dysphania ambrosioides* L.  
(AMARANTHACEAE)**

**AREIA**

**2024**

**AMANDA SABRINA CAMPOS SOARES**

**AVALIAÇÃO *IN SILICO* DO POTENCIAL BRONCODILATADOR DE  
FLAVONOIDES E MONOTERPENOS DE *Dysphania ambrosioides* L.  
(AMARANTHACEAE)**

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

**Orientadora:** Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Yanna Carolina Ferreira Teles.

**AREIA**

**2024**

**Catálogo na publicação**  
**Seção de Catalogação e Classificação**

S676a Soares, Amanda Sabrina Campos.

Avaliação in silico do potencial broncodilatador de flavonoides e monoterpenos de *Dysphania ambrosioides* L. (Amaranthaceae) / Amanda Sabrina Campos Soares. - Areia:UFPB/CCA, 2024.

45 f. : il.

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

1. Química. 2. *Chenopodium ambrosioides*. 3. Mastruz. 4. Docking molecular. 5. Receptor muscarínico 4DAJ. 6. Medicina tradicional. I. Teles, Yanna Carolina Ferreira. II. Título.

UFPB/CCA-AREIA

CDU 54(02)

AMANDA SABRINA CAMPOS SOARES

**AVALIAÇÃO *IN SILICO* DO POTENCIAL BRONCODILATADOR DE  
FLAVONOIDES E MONOTERPENOS DE *Dysphania ambrosioides* L.  
(AMARANTHACEAE)**

Trabalho 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: 15/05/2024.

**BANCA EXAMINADORA**

Documento assinado digitalmente



**YANNA CAROLINA FERREIRA TELES**  
Data: 13/05/2024 15:44:15-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Prof<sup>ª</sup>. Dra. Yanna Carolina Ferreira Teles (Orientadora)  
Universidade Federal da Paraíba (UFPB)

Documento assinado digitalmente



**ELIZABETH ALMEIDA LAFAYETTE**  
Data: 13/05/2024 17:48:51-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Prof<sup>ª</sup>. Dra. Elizabeth Almeida Lafayette (Examinadora)  
Universidade Federal da Paraíba (UFPB)

Documento assinado digitalmente



**EDILENE DANTAS TELES MOREIRA**  
Data: 15/05/2024 13:43:24-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Prof<sup>ª</sup>. Dra. Edilene Dantas Teles Moreira (Examinadora)  
Universidade Federal da Paraíba (UFPB)

*Aos meus pais, Eliane Fernanda e José Aécio, por todo suporte durante a minha graduação e por se fazerem presentes em todos os momentos especiais da minha vida. Com carinho e todo amor, dedico!*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço imensamente a Deus pela minha vida, pela minha família, por todo amor e proteção a mim destinados. Obrigada por me dar forças para seguir em frente todas as vezes que eu duvidei da minha capacidade, por ser meu alicerce e nunca soltar minha mão. Prometo reclamar menos e confiar mais, hoje sei que o Senhor me ajuda diariamente com minhas necessidades e não, necessariamente, atendendo as minhas vontades. Meu amor e minha gratidão a Ti são eternos!

Aos meus pais, Eliane Fernanda e José Aécio, por todo amor, carinho, cuidado e dedicação. Obrigada por todos os ensinamentos e valores repassados. Tudo o que é bom em mim, veio de vocês. Agradeço também pelo apoio, emocional e financeiro, e incentivo ao longo da minha graduação. Amo vocês desde sempre e para sempre!

Aos meus avôs (*in memoriam*), Ruthe Campos, Fernando Campos e Maria Soares. Eu gostaria de ter aproveitado mais a vida com vocês. Eternas saudades!

Ao meu irmão, Eliércio Fernandes, e a minha cunhada, Luciana Martins, por todo suporte acadêmico e paciência na vida pessoal. Foram vocês que me incentivaram a cursar Química e nessa difícil jornada me ajudaram das mais variadas formas. Obrigado por tudo!

Aos meus amigos: Isabeli Souto, Angeliana de Azevedo, Afonso Campos e Anderson Batista, por todas as risadas, dramas e sofrimento compartilhados durante a graduação. Obrigada pelo apoio, momentos de descontração, amizade e experiências de vida trocadas dentro dos alojamentos da universidade!

A professora Yanna Teles pela orientação nas atividades de estágio e na elaboração deste trabalho de conclusão de curso. Obrigada pela ajuda e conhecimentos repassados!

A todos os professores do curso de Química, em especial, Lucina Rocha, Elizabeth Lafayette, Renaldo Tenório e Luzia Honório, pela orientação e oportunidade de participar como bolsista dos projetos de tutoria, extensão, iniciação tecnológica e iniciação científica, respectivamente. Sou muito grata pela experiência vivenciada e pelos ensinamentos adquiridos.

Ao Centro de Ciências Agrárias, colegas de curso e a todos que compõem a Universidade Federal da Paraíba pela contribuição direta ou indireta para a minha formação. Muito Obrigada!

*“A ciência e a vida cotidiana não podem e não  
devem ser separadas.”*

*(Rosalind Franklin)*

## RESUMO

A realização de pesquisas científicas voltadas para a investigação de mecanismos biológicos subjacentes que possam justificar as propriedades terapêuticas atribuídas as plantas por uma população é de extrema importância para a descoberta de novos fármacos. A propagação de informações sobre o manejo e uso de plantas para diversos fins é favorecida pela diversidade vegetal, cultural e étnica presente em um país. Na medicina popular brasileira, são relatados os usos de várias espécies vegetais. Estudos mostram que a espécie *Dysphania ambrosioides* L., antes *Chenopodium ambrosioides* L., popularmente conhecida como Mastruz, é utilizada tradicionalmente como estimulante respiratório no tratamento de doenças como bronquite, asma, tosse, etc. Entre as substâncias já identificadas de *D. ambrosioides*, estão presentes metabólitos com reconhecido valor medicinal pertencentes as classes dos monoterpenos e flavonoides, que são considerados os principais responsáveis pelas propriedades medicinais atribuídas à espécie. Diante disso, o presente trabalho tem como objetivo investigar o potencial broncodilador de metabólitos secundários de *D. ambrosioides*, utilizando ferramentas computacionais. O receptor muscarínico brônquico (4DAJ), um dos principais responsáveis pela sinalização da contração da musculatura lisa dos brônquios, foi submetido ao teste de *docking* molecular com monoterpenos e flavonoides encontrados na espécie estudada. Os resultados mostraram que todos os metabólitos testados apresentaram afinidade de ligação pelo receptor 4DAJ. Foi observado que para os monoterpenos a interação com a macromolécula ocorreu apenas a partir de interações fracas do tipo de *Van Der Waals* e hidrofóbicas, enquanto os flavonoides também interagiram com a biomolécula a partir de ligações de hidrogênio, o que resultou em um acréscimo de estabilidade nos complexos formados, com destaque para a quercetina ( $\Delta G^\circ = -9,1$  Kcal/mol). Desta forma, pode-se concluir que todos os monoterpenos e flavonoides testados apresentam potencial para inibir a sinalização celular para a contração da musculatura lisa dos brônquios, o que pode fornecer uma possível explicação para a eficácia relatada pela população no uso oral e inalatório da espécie no tratamento de doenças que causam obstrução das vias aéreas.

**Palavras-chave:** *Chenopodium ambrosioides*; mastruz; *docking* molecular; receptor muscarínico 4DAJ; medicina tradicional.

## ABSTRACT

Conducting scientific research focused on investigating the underlying biological mechanisms that may justify the therapeutic properties attributed to plants by a population is of utmost importance for discovering new drugs. The dissemination of information about plant management and use for various purposes is facilitated by the botanical, cultural, and ethnic diversity present in a country. In Brazilian folk medicine, the uses of several plant species are reported. Studies show that the species *Dysphania ambrosioides* L., formerly known as *Chenopodium ambrosioides* L. and popularly called “Mastruz,” is traditionally used as a respiratory stimulant in the treatment of diseases such as bronchitis, asthma, and cough. Among the identified substances from *D. ambrosioides*, there are metabolites with recognized medicinal value belonging to the classes of monoterpenes and flavonoids, which are considered the main contributors to the species’ medicinal properties. In light of this, the present study aims to investigate the bronchodilator potential of secondary metabolites from *D. ambrosioides* using computational tools. The bronchial muscarinic receptor (4DAJ), one of the main responsible for signaling the contraction of the smooth muscles of the bronchi, was subjected to molecular docking tests with monoterpenes and flavonoids found in the specie studied. The results showed that all tested metabolites exhibited binding affinity for the 4DAJ receptor. It was observed that for monoterpenes interaction with the macromolecule occurred primarily through weak van der Waals and hydrophobic interactions. In contrast, flavonoids also interacted with the biomolecule via hydrogen bonds, resulting in increased stability in the formed complexes, with quercetin standing out ( $\Delta G^\circ = -9.1$  kcal/mol). Therefore, it can be concluded that all tested monoterpenes and flavonoids have the potential to inhibit cell signaling for the contraction of bronchial smooth muscles, which may provide a possible explanation for the efficacy reported by the population in oral and inhalation use of the species in the treatment of diseases that cause airway obstruction.

**Keywords:** *Chenopodium ambrosioides*; mastruz; molecular docking; bronchial muscarinic receptor 4DAJ; traditional medicine.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1 -</b>	Distribuição geográfica da família Amaranthaceae .....	16
<b>Figura 2 -</b>	Distribuição geográfica do gênero <i>Dysphania</i> R. Br.....	17
<b>Figura 3 -</b>	<i>Dysphania ambrosioides</i> L. ....	18
<b>Figura 4 -</b>	Distribuição geográfica de <i>D. ambrosioides</i> .....	19
<b>Figura 5 -</b>	Compostos fenólicos encontrados em <i>D. ambrosioides</i> .....	20
<b>Figura 6 -</b>	Monoterpenos presentes no OE de <i>D. ambrosioides</i> .....	21
<b>Figura 7 -</b>	Compostos químicos isolados de <i>D. ambrosioides</i> .....	23
<b>Figura 8 -</b>	Mecanismo de ação do receptor muscarínico M3.....	24
<b>Figura 9 -</b>	Tiotrópio.....	25
<b>Figura 10 -</b>	Receptor muscarínico de acetilcolina M3 (PDB id: 4DAJ) .....	28
<b>Figura 11 -</b>	<i>Gridbox</i> construído no sítio de ligação do receptor 4DAJ.....	29
<b>Figura 12-</b>	Sobreposição do Tiotrópio cocristalizado pelo redocado.....	32
<b>Figura 13 -</b>	Resultado do <i>Docking</i> molecular do monoterpene <i>p</i> -cimeno.....	34
<b>Figura 14 -</b>	Resultado do <i>Docking</i> molecular do monoterpene 4-careno.....	35
<b>Figura 15 -</b>	Resultado do <i>Docking</i> molecular do monoterpene Ascaridol.....	36
<b>Figura 16 -</b>	Resultado do <i>Docking</i> molecular do flavonoide Luteolina.....	37
<b>Figura 17 -</b>	Resultado do <i>Docking</i> molecular do flavonoide Canferol.....	38
<b>Figura 18 -</b>	Resultado do <i>Docking</i> molecular do flavonoide Quercetina.....	39

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Exemplos do uso popular de <i>D. ambrosioides</i> no Brasil.....	19
<b>Tabela 2</b> - Dados do <i>redocking</i> molecular.....	31
<b>Tabela 3</b> - Afinidade de ligação dos ligantes seleccionados com o receptor 4DAJ.....	32

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>Ach</b>	Acetilcolina
<b>ALA</b>	Alanina
<b>ASN</b>	Aspartato
<b>ASP</b>	Ácido Aspártico
<b>CYS</b>	Cisteína
<b>ILE</b>	Isoleucina
<b>LEU</b>	Leucina
<b>OE</b>	Óleo essencial
<b>OMS</b>	Organização Mundial de Saúde
<b>PHE</b>	Fenilalanina
<b>PDB</b>	<i>Protein Data Bank</i>
<b>RMSD</b>	<i>Root Mean Square Deviation</i>
<b>SER</b>	Serina
<b>THR</b>	Treonina
<b>TRP</b>	Triptofano
<b>TYR</b>	Tirosina
<b>VAL</b>	Valina

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>12</b>
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	<b>14</b>
2.1 Objetivo Geral .....	14
2.2 Objetivos Específicos .....	14
<b>3 JUSTIFICATIVA</b> .....	<b>15</b>
<b>4 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	<b>16</b>
4.1 Considerações sobre a família <i>Amaranthaceae</i> e o gênero <i>Dysphania</i> R. Br.....	16
4.2 Caracterização da espécie <i>Dysphania ambrosioides</i> L.....	18
4.2.1 Perfil fitoquímico de <i>D. ambrosioides</i> .....	20
4.3 Doenças respiratórias e broncoconstrição.....	24
4.4 <i>Docking</i> molecular no desenvolvimento de fármacos.....	25
<b>5 METODOLOGIA</b> .....	<b>27</b>
5.1 Seleção do receptor e ligantes .....	27
5.2 Tratamento do receptor .....	27
5.3 Validação do método por <i>redocking</i> .....	28
5.4 Tratamento dos ligantes.....	29
5.5 <i>Docking</i> molecular .....	29
5.6 Análise dos Resultados .....	30
<b>6 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>31</b>
6.1 Validação do método por <i>redocking</i> .....	31
6.2 Afinidade de ligação entre os metabólitos de <i>D. ambrosioides</i> e o receptor 4DAJ .....	32
6.3 Resultados do <i>docking</i> molecular e análise das interações químicas .....	33
6.3.1 Interação entre o receptor 4DAJ e o <i>p</i> -cimeno .....	33
6.3.2 Interação entre o receptor 4DAJ e o 4-careno .....	34
6.3.3 Interação entre o receptor 4DAJ e o Ascaridol .....	35
6.3.4 Interação entre o receptor 4DAJ e a Luteolina .....	36
6.3.5 Interação entre o receptor 4DAJ e o Canferol.....	37
6.3.6 Interação entre o receptor 4DAJ e a Quercetina.....	38
6.4 Análise dos resultados .....	40
<b>7 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	<b>41</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>42</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A disponibilidade de recursos vegetais é considerada uma condição essencial para a sobrevivência do ser humano desde as primeiras civilizações. A propagação de experiências de uso passadas de geração em geração e a realização de estudos voltados para a obtenção de informações sobre propriedades medicinais e nutricionais das plantas são considerados fatores determinantes para a correta utilização destas espécies pela população (Pilon *et al.*, 2020).

Na região Nordeste do Brasil a utilização de plantas medicinais é recorrente, sendo o uso tradicional de espécies vegetais como recurso terapêutico favorecido devido à grande diversidade vegetal, cultural e étnica presente no país, que resulta no acúmulo e propagação de informações sobre o manejo e uso (Brasil, 2016).

Pesquisas etnobotânicas já realizadas evidenciam o uso de várias espécies de plantas, as quais são atribuídas propriedades terapêuticas, principalmente no tratamento de afecções respiratórias (Mosca e Loiola, 2009; Beltreschi *et al.*, 2019; Ferreira *et al.*, 2021). As doenças que causam constrição das vias aéreas são uma das principais causas de hospitalizações e mortes no mundo. Estas doenças afetam principalmente a população mais pobre devido a maior exposição a fatores de risco e dificuldades de acesso a medicina convencional para diagnóstico e tratamento (Oliveira *et al.*, 2022).

Diferentes métodos são utilizados na medicina convencional para prevenir e tratar doenças respiratórias, destacando-se o uso de vacinas, suporte ventilatório e inalação. Além disso, muitas plantas também fornecem compostos bioativos com efeito broncodilatador (Oriola e Oyedeji, 2022).

Na medicina popular, a espécie vegetal *Dysphania ambrosioides* L., popularmente conhecida como Mastruz, é considerada um estimulante respiratório, sendo amplamente utilizada para o tratamento de bronquite, asma, catarro, tosse, influenza, etc. (Carvalho e Silva *et al.*, 2016). O uso tradicional da planta para o tratamento de sintomas como a dispneia envolve a administração por via oral ou inalatória de infusões, macerações e decocções (Magalhães *et al.*, 2019).

As propriedades terapêuticas de uma planta estão relacionadas as substâncias produzidas no seu metabolismo secundário que apresentam alto potencial de interação com diferentes sistemas biológicos, atuando ligando-se a proteínas e outras biomoléculas do metabolismo humano. Diante disto, muitos fármacos são desenvolvidos a partir da validação das atividades biológicas e farmacológicas dessas moléculas bioativas, que pertencem a

diferentes grupos químicos, como compostos fenólicos, terpenos, alcaloides, entre outros (Simões *et al.*, 2017).

A grande maioria dos medicamentos desenvolvidos na atualidade são derivados de organismos vivos, sobretudo plantas, o que demonstra a importância da realização de estudos na área de química de produtos naturais para a descoberta de novos fármacos. O conhecimento sobre o uso tradicional de plantas medicinais pode desempenhar um papel relevante ao fornecer evidências sobre as propriedades terapêuticas de diferentes espécies vegetais (Oriola e Oyedeji, 2022; Carneiro *et al.*, 2014).

Na atualidade, diferentes métodos computacionais têm sido utilizados na investigação e descoberta do mecanismo de ação de novos fármacos. Entre estes métodos destaca-se o *docking* molecular, que é uma ferramenta que permite simular o acoplamento de um ligante dentro do sítio ativo de um receptor, podendo ser usado para prever a afinidade de ligação entre biomoléculas ativas e seus potenciais alvos biológicos, possibilitando assim a avaliação *in silico* das interações intermoleculares realizadas e quantificação da energia envolvida na formação do complexo ligante-receptor (Pinzi e Rastelli, 2019).

Diante da importância da realização de estudos voltados para a descoberta de novos fármacos e os relatos do uso tradicional de espécies vegetais no tratamento de doenças respiratórias obstrutivas, este trabalho tem como objetivo avaliar o potencial broncodilatador de metabólitos secundários presentes em *D. ambrosioides* por *docking* molecular.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

Investigar o potencial broncodilador de substâncias do metabolismo secundário da espécie *Dysphania ambrosioides* L., avaliando a afinidade de ligação destes metabólitos pelo receptor colinérgico muscarínico M3 (PDB ID: 4DAJ).

### 2.2 Objetivos Específicos

- Fazer uma revisão bibliográfica sobre o perfil fitoquímico de *D. ambrosioides*;
- Analisar por *docking* molecular a afinidade química de metabólitos secundários presentes na espécie vegetal estudada pela macromolécula 4DAJ;
- Avaliar a energia livre de ligação e os tipos de interações intermoleculares envolvidas na formação dos complexos proteína-ligante;
- Identificar os principais aminoácidos responsáveis pela interação entre o receptor 4DAJ e os metabólitos no sítio de ligação.

### 3 JUSTIFICATIVA

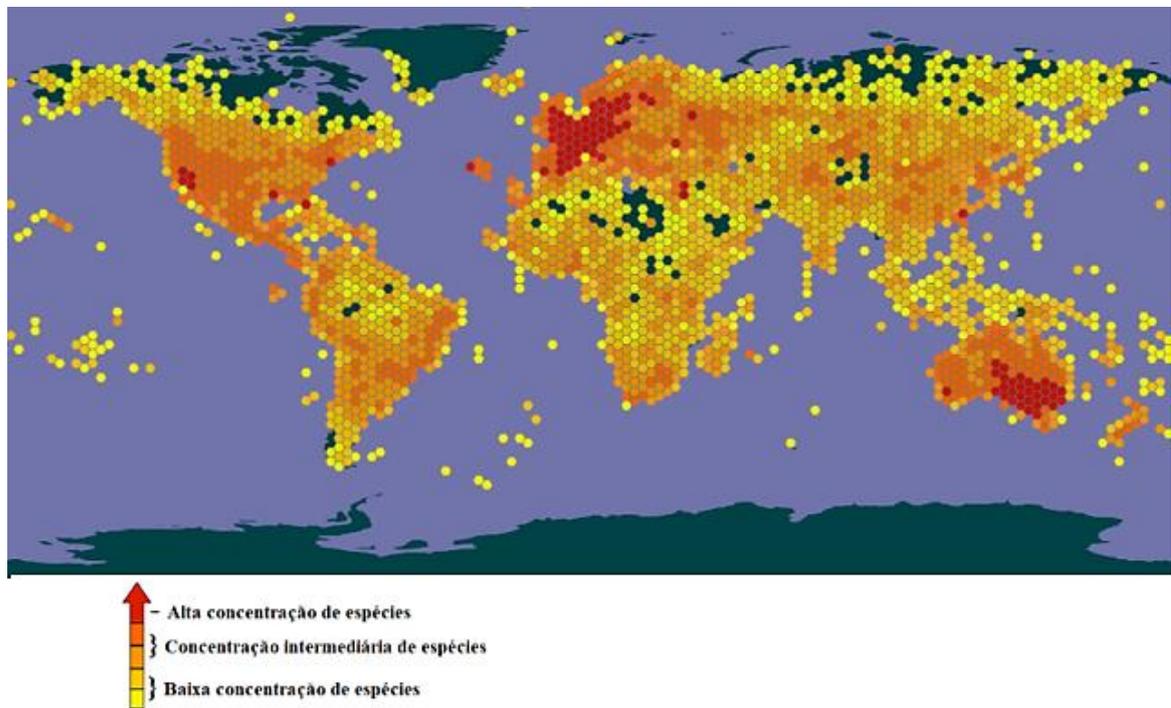
Estudos etnobotânicos realizados na região Nordeste do Brasil relatam que *Dysphania ambrosioides* L. é considerada um importante recurso terapêutico no tratamento de doenças que causam constrição das vias aéreas acarretando prejuízos a saúde e bem-estar da população, como asma, tosse, bronquite, etc. Embora *D. ambrosioides* seja amplamente conhecida e utilizada na medicina popular, na literatura ainda são apresentadas poucas informações sobre o potencial broncodilatador dos seus constituintes químicos, o que evidencia a importância do desenvolvimento de novas pesquisas voltadas para a investigação de mecanismos biológicos subjacentes que possam justificar o uso tradicional desta espécie para tratar afecções respiratórias.

## 4 REFERENCIAL TEÓRICO

### 4.1 Considerações sobre a família Amaranthaceae e o gênero *Dysphania* R. Br.

Amaranthaceae é uma família de plantas anuais ou perenes (Hussain *et al.*, 2018) da ordem Caryophyllales, que atualmente inclui a subfamília Chenopodiaceae, sendo composto por cerca de 180 gêneros e 2.500 espécies, que geralmente se adaptam e resistem a altas temperaturas, alta irradiância, ambientes áridos e salinos, estando difundidas pelo mundo, principalmente na América Central, América do Sul, África do Sul e Austrália (Figura 1) (Nazish *et al.*, 2019).

**Figura 1** – Distribuição geográfica da Família Amaranthaceae.



**Fonte:** Adaptado de GBIF, 2023.

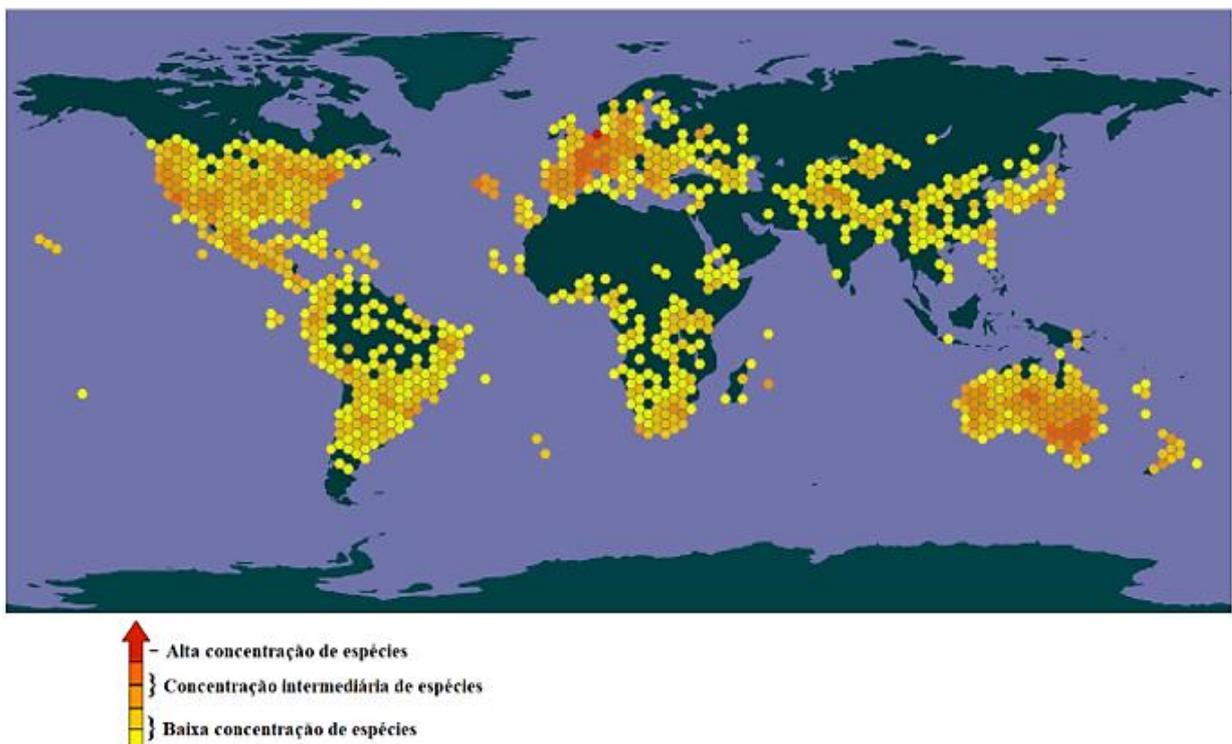
No Brasil são encontradas 145 espécies de Amaranthaceae, geralmente ervas e subarbustos tropicais, sendo algumas plantas usadas para fins medicinais no tratamento de afecções respiratórias, distúrbios gastrointestinais, diabetes, febre e doenças virais (Albino *et al.*, 2015). Muitas espécies também são consideradas importantes economicamente por possuírem alto valor nutricional, sendo utilizadas na alimentação humana, como por exemplo, *Beta vulgaris* subesp. *vulgaris* var. *cicla* (acelga), *B. vulgaris* subesp. *vulgaris* var. *conditiva*

(beterraba), *Amaranthus* ssp. (amaranto), *Chenopodium quinoa* (quinoa) e *Spinacia oleracea* (espinafre) que são fontes de vitaminas (Ho *et al.*, 2021).

Dentre os gêneros de Amaranthaceae mais abundantes no mundo estão: *Atriplex* L., *Gomphrena* L., *Alternanthera* Forssk. e *Chenopodium* L. (Sandoval-Ortega *et al.*, 2017). Este último, é dividido em três subgêneros: C. subg. *Ambrosia* A. J. Scott, subg. *Quenopódio* e subg. *Blitum* (L.) e possui uma história de classificação complexa com propostas de vários táxons infragêneros. Além disso, após a descoberta da existência de uma linhagem independente de plantas previamente colocadas no subgênero *Ambrosia*, ocorreu a transferência de algumas espécies para o gênero separado *Dysphania* R. Br. (Mosyakin e Clemants, 2002 e 2008; Fuentes-Bazan *et al.*, 2012).

O gênero *Dysphania*, pertence a tribo *Dysphanieae* da subfamília *Chenopodioideae* e é composto por 50 espécies caracterizadas pela presença de pelos glandulares e/ou glândulas subsésseis amarelas ou alaranjadas, que possuem um odor característico devido a concentração de óleo essencial em sua composição (Uotila *et al.*, 2021). Entretanto, existe uma grande variedade morfológica na anatomia foliar das espécies, que em sua maioria são plantas ruderais ou consideradas invasoras, distribuídas geograficamente nos trópicos, subtropicais e em ambientes quentes (Figura 2) (Grozeva e Cvetanova, 2013).

**Figura 2** – Distribuição geográfica do gênero *Dysphania* R. Br.



**Fonte:** Adaptado de GBIF, 2023.

## 4.2 Caracterização da espécie *Dysphania ambrosioides* L.

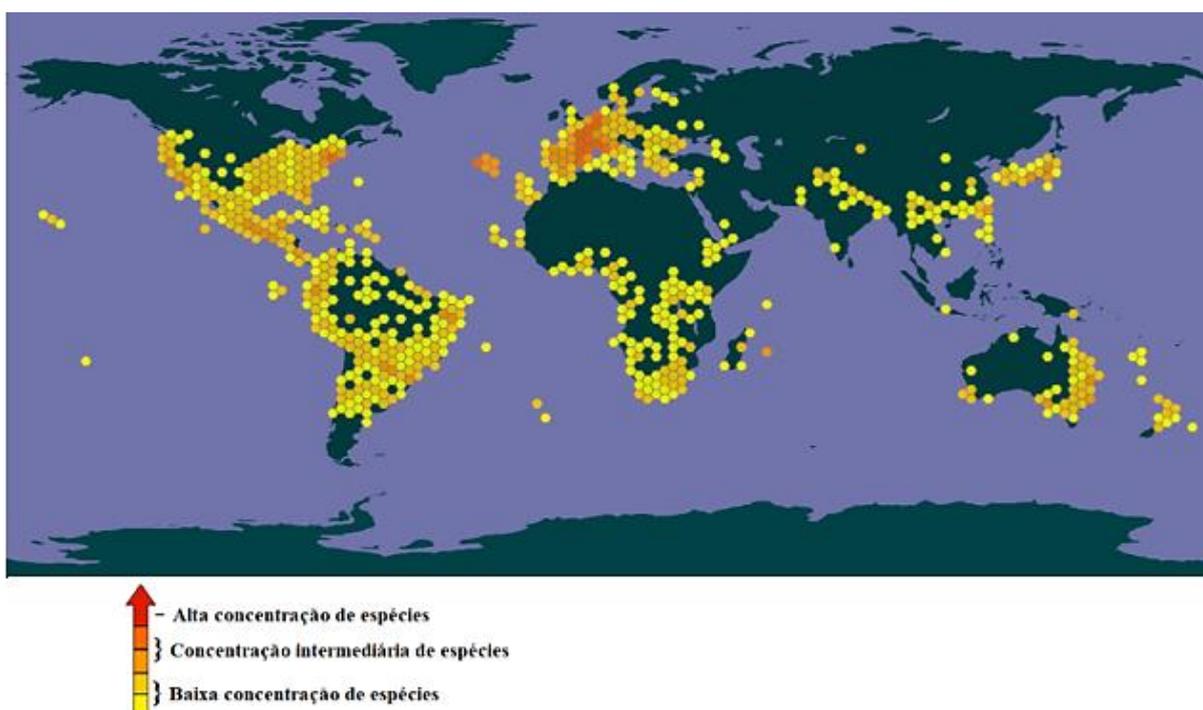
*Dysphania ambrosioides* L. Mosyakin & Clemants, antes *Chenopodium ambrosioides* L., é uma planta aromática caracterizada pelo seu odor forte e considerado desagradável, popularmente conhecida no Brasil como mastruz, mentruz, erva-de-santa-maria e mastruço, caracterizada como uma espécie arbustiva anual ou perene de até 1 m de altura, que possui caule avermelhado e ramificado, folhas ovais dentadas, flores pequenas e sementes de coloração esverdeadas (Figura 3)(Kasali *et al.*, 2021).

**Figura 3** – *Dysphania ambrosioides* L.



**Fonte:** Adaptado de GBIF, 2023.

A Organização Mundial de Saúde (OMS) considera *D. ambrosioides* como uma das plantas mais usadas no planeta, devido a ampla distribuição geográfica da espécie, principalmente em regiões subtropicais e subtemperadas (Figura 4) e a grande quantidade de benefícios terapêuticos a ela atribuídos. Na medicina popular, a espécie é utilizada como diurético, anti-inflamatório, antiviral, antifúngico, analgésico, antioxidante (Lacerda-Neto *et al.*, 2021), vermífugo, para tratar problemas gastrointestinais e cardíacos, diabetes, hipertensão (Assaidi *et al.*, 2019), bronquite, asma, tosse, etc (Carvalho e Silva *et al.*, 2016).

**Figura 4** – Distribuição geográfica de *D. ambrosioides*.

**Fonte:** Adaptado de GBIF Secretariat, 2023.

O uso popular de *D. ambrosioides* para os diferentes fins terapêuticos depende da parte da planta, método de preparo e via de administração selecionados. No Brasil, estudos etnobotânicos mostram que todas as partes da espécie são tradicionalmente usadas na medicina popular, destacando-se a infusão e a decocção das folhas para uso oral (Tabela 1) (Kandsi *et al.*, 2023).

**Tabela 1** - Exemplos do uso popular de *D. ambrosioides* no Brasil.

Parte usada	Uso popular	Modo de preparo	Aplicação
Folhas	Cicatrização de feridas	Suco/ Maceração	Aplicação tópica/ Bandagem
Planta inteira, partes aéreas	Anti-helmíntico	Decocção e suco	Via oral
Planta inteira	Malária	Infusão e maceração	Via oral
Folhas, sementes e raízes	Gastrite, úlcera, vermes, dor de estômago, úlcera e cólica	Suco, decocção, maceração e infusão	Via oral
Planta inteira, folhas, caules e raízes	Gripe, tosse, tuberculose e influenza	Suco, decocção, infusão e maceração	Via oral
Partes aéreas	Bronquite	Infusão, decocção e suco	Via oral

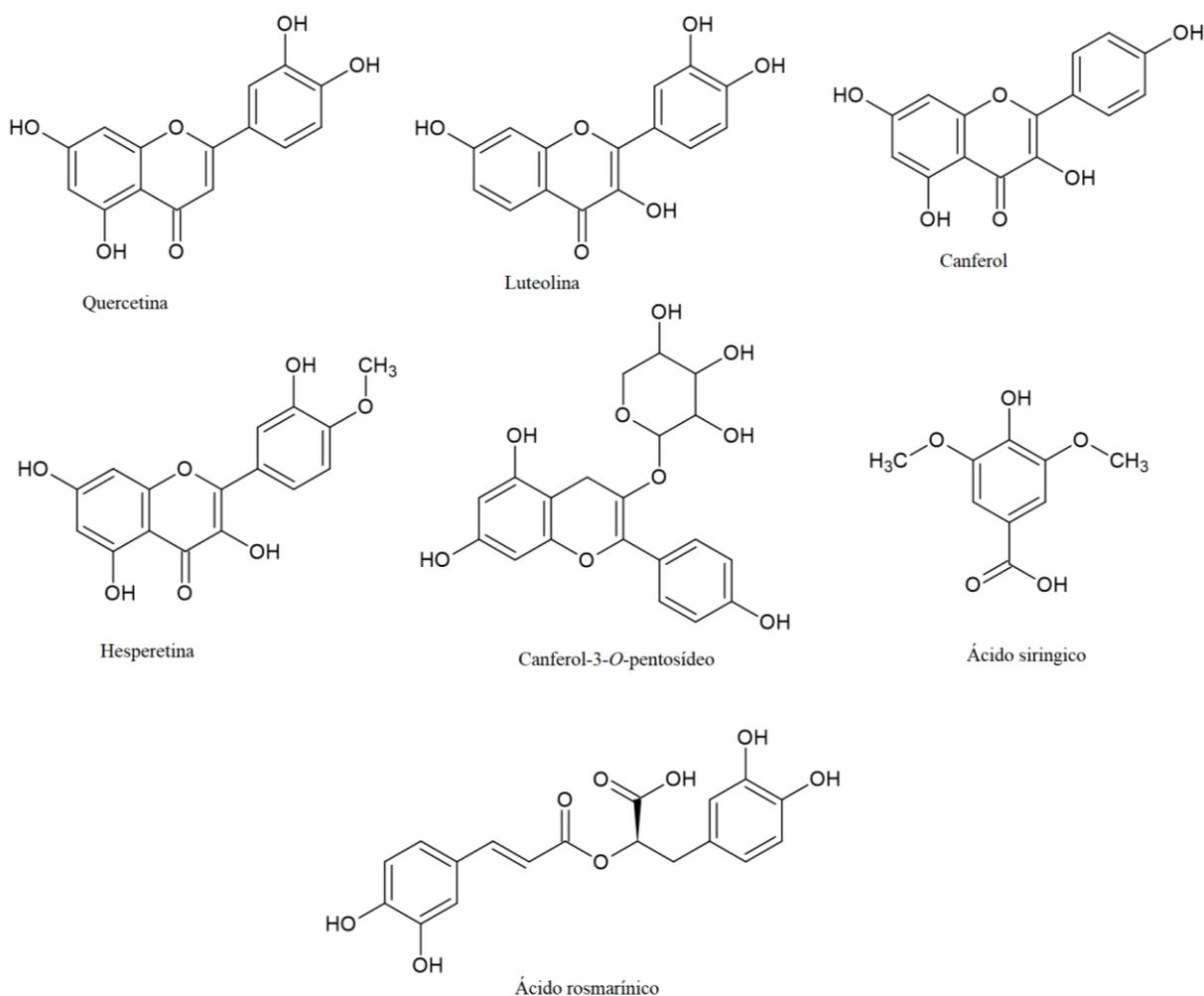
**Fonte:** Adaptado de Kandsi *et al.*, 2023.

#### 4.2.1 Perfil fitoquímico de *D. ambrosioides*

Cerca de 330 compostos já foram isolados e caracterizados de diferentes partes de *D. ambrosioides*, principalmente da classe dos monoterpenos, componentes majoritários do óleo essencial (OE), seguido por flavonoides, presentes em grande quantidade nos extratos etanólicos e hidroalcoólicos da espécie (Kasali *et al.*, 2021).

Vários compostos fenólicos já foram identificados entre os metabólitos secundários presentes nas partes aéreas de *D. ambrosioides*, principalmente flavonoides e flavonoides glicosídicos (Kandsi *et al.*, 2023; Ghareeb *et al.*, 2016). Entre as 18 espécies químicas reveladas por Kandsi *et al.* (2021) em extrato hidroetanólico da planta, estavam presentes em grande abundância: ácido siríngico, ácido rosmarínico, canferol, quercetina, hesperetina e canferol-3-O-pentosídeo (Figura 5).

**Figura 5**– Compostos fenólicos encontrados em *D. ambrosioides*.

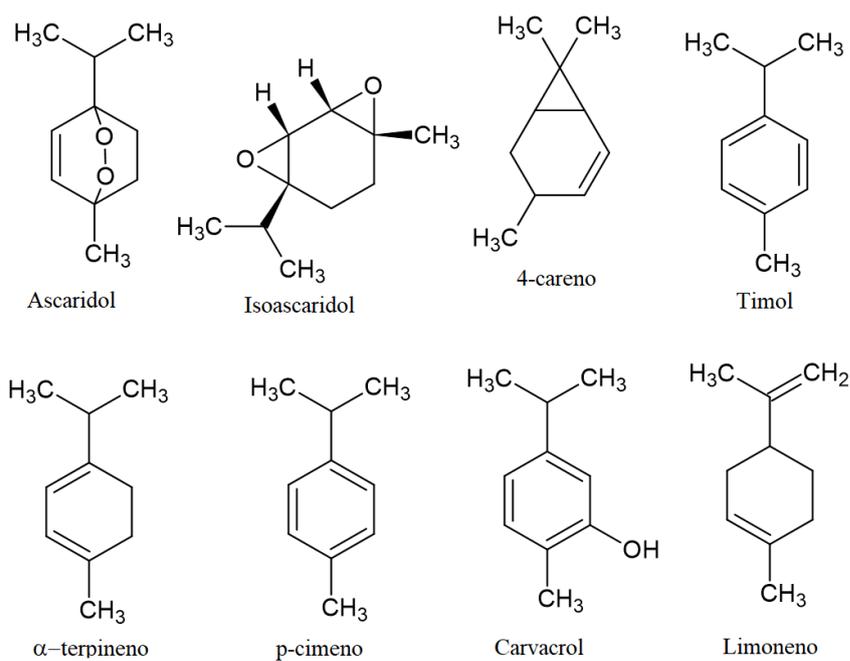


**Fonte:** Adaptado de Kandsi *et al.*, 2021.

O OE extraído de diferentes partes de *D. ambrosioides* (caule, folhas e flores) é considerado por pesquisadores como um dos principais responsáveis pelas propriedades terapêuticas atribuídas a espécie (Sá *et al.*, 2015). Essa atribuição se deve a presença de metabólitos com reconhecido valor medicinal em sua composição, entre eles Ascaridol, Isoascaridol, p-cimeno, Limoneno e  $\alpha$ -terpineno (Lacerda-Neto *et al.*, 2021).

A constituição química e quantidade relativa dos componentes do OE de *D. ambrosioides* podem apresentar variações significativas de acordo com o país, época de coleta, parte da planta e método de extração e análise utilizados (Sá *et al.*, 2015). Entretanto, de acordo com diferentes pesquisadores, a composição geralmente apresenta um alto teor dos monoterpenos  $\alpha$ -terpineno, p-cimeno, Ascaridol, Timol, 4-carene, Carvacrol e Isoascaridol (Figura 6) (Kandsi *et al.*, 2023).

**Figura 6**– Monoterpenos presentes no OE de *D. ambrosioides*.



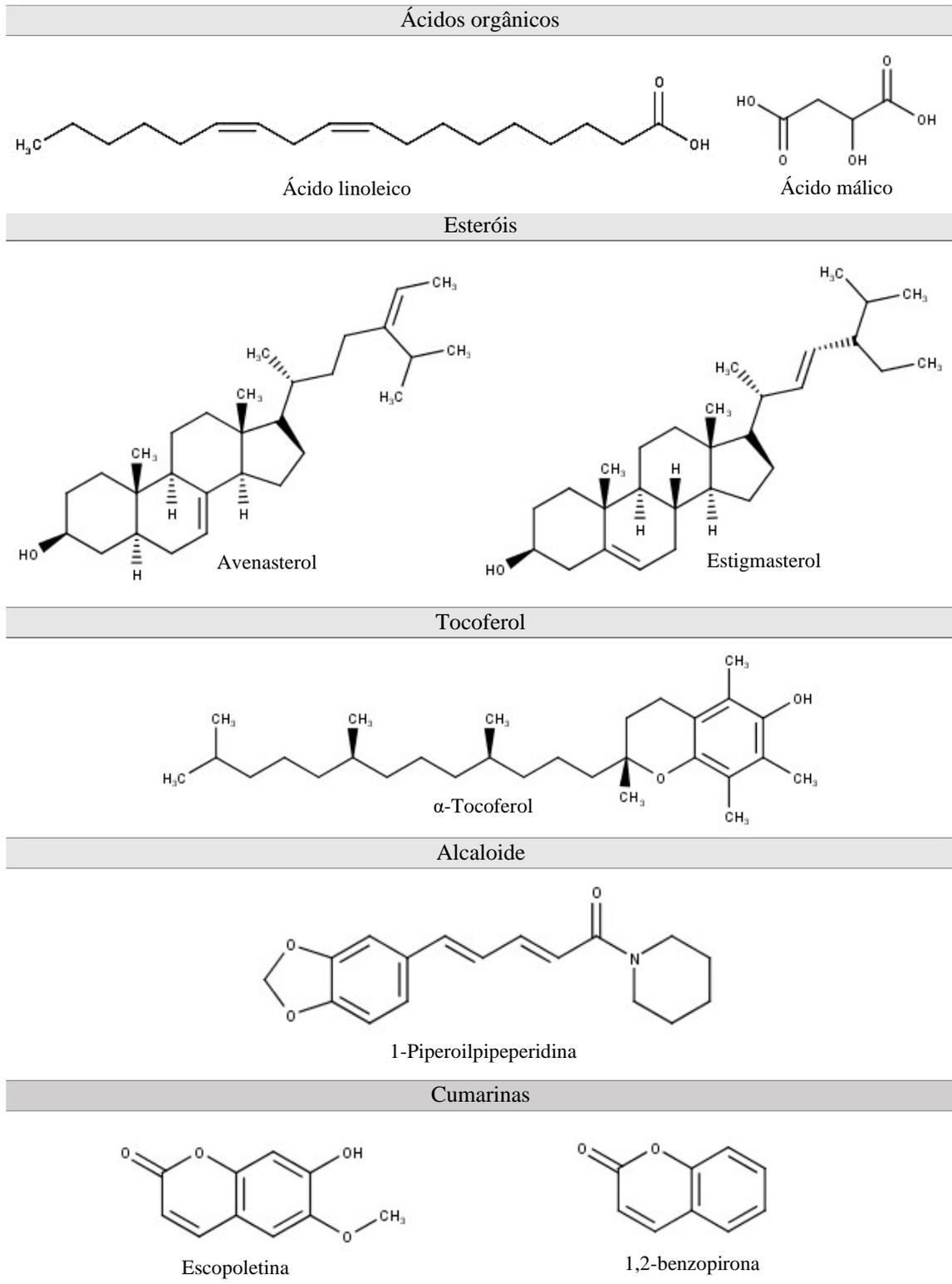
**Fonte:** Adaptado de Kandsi *et al.*, 2023.

As diferenças na composição química do OE de *D. ambrosioides* relatadas na literatura, podem estar relacionadas a processos evolutivos, ecológicos, fisiológicos e bioquímicos, por exemplo, a isomerização térmica do Ascaridol em Isoascaridol e a auto-oxidação do  $\alpha$ -terpineno que aumenta a concentração de outros componentes (Degenhardt *et al.*, 2016; Lacerda-Neto *et al.*, 2021).

Estudos fitoquímicos realizados no Brasil mostraram variações qualitativas e quantitativas na composição do OE de *D. ambrosioides*: Ascaridol (80%) (Jardim *et al.*, 2008); Ascaridol (49,77%) e *p*-cimeno (42,32%) (Degenhardt *et al.*, 2016);  $\alpha$ -terpineno (54,09%) e Ascaridol (15,13%) (Bezerra *et al.*, 2019);  $\alpha$ -terpineno (30,53%), Timol (18,11%) e *o*-cimeno (13,68%) (Pereira-de-Morais *et al.*, 2020).

Além dos componentes fenólicos e voláteis, outras classes de substâncias também estão presentes no metabolismo secundário de *D. ambrosioides*. Na literatura, pesquisadores relatam a identificação de compostos bioativos pertencentes a diferentes grupos químicos, como esteróis, ácidos orgânicos, tocoferóis, alcaloides e cumarinas (Figura 7) (Kandsi *et al.*, 2023; Quaresma *et al.*, 2021).

**Figura 7 -** Compostos químicos isolados de *D. ambrosioides*.



Fonte: Elaborado pela autora, 2023.

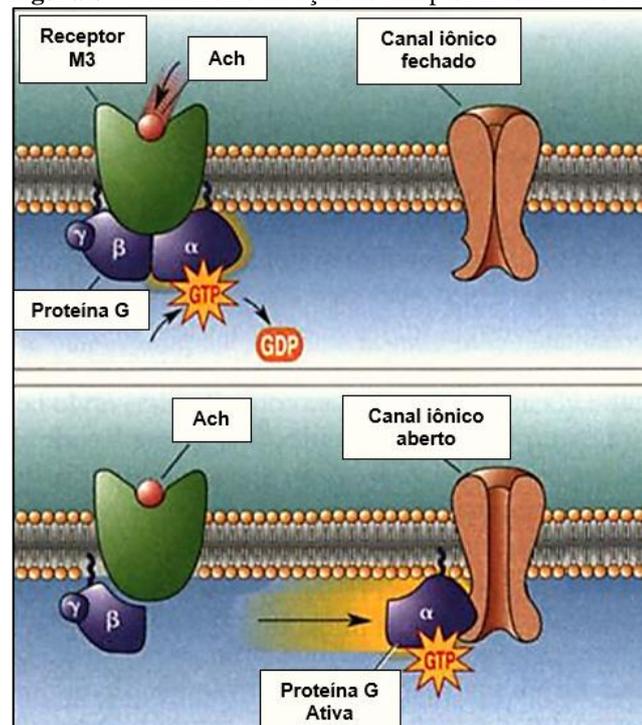
### 4.3 Doenças respiratórias e broncoconstrição

O sistema respiratório humano é formado por vários órgãos e estruturas específicas divididos entre o trato respiratório superior e o trato respiratório inferior. Os brônquios, diafragma e pulmões estão localizados no trato respiratório inferior e podem ter suas funções comprometidas por diversos tipos de doenças restritivas e obstrutivas. Atualmente, entre as doenças respiratórias mais frequentes estão: doença pulmonar obstrutiva crônica, asma, tuberculose, bronquite, pneumonia, gripe comum e COVID-19 (Oriola e Oyedeji, 2022).

A fisiopatologia das doenças respiratórias obstrutivas está relacionada a contração da musculatura lisa dos brônquios, que causa o estreitamento das vias aéreas dificultando a passagem de ar (Ventura *et al.*, 2010). O mecanismo de contração e relaxamento, que causam broncoconstrição e broncodilatação, respectivamente, é controlado pela concentração intracelular de  $\text{Ca}^{2+}$ , onde receptores colinérgicos regulam o tônus broncomotor (Reyes-García *et al.*, 2018; Williams e Rubin, 2018).

A sinalização celular para o broncoespasmo ocorre a partir da ativação do receptor muscarínico de acetilcolina (M3) nos brônquios, através da formação do complexo M3-acetilcolina (Ach), onde o neurotransmissor regula indiretamente a abertura de canais iônicos a partir da subunidade alfa da proteína G, que atua como um segundo mensageiro (Figura 8); (Rodrigues *et al.*, 2016).

**Figura 8** – Mecanismo de ação do receptor muscarínico M3.

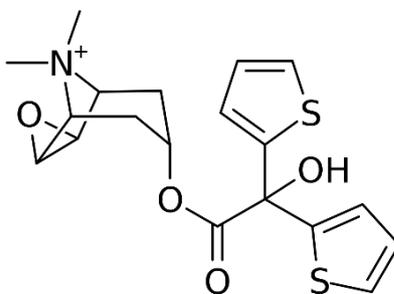


Fonte: Adaptado de Rodrigues *et al.*, 2016.

O tratamento convencional das doenças respiratórias obstrutivas inclui o uso de medicamentos, suporte ventilatório e inalação (Oriola e Oyedeji, 2022). Os broncodilatadores são medicamentos que auxiliam na desobstrução das vias aéreas ao induzir o relaxamento do músculo liso e diminuir a ação dos neurotransmissores que provocam o broncoespasmo (Vargas *et al.*, 2012).

Uma classe importante de broncodilatadores são os medicamentos anticolinérgicos baseados na especificidade de agonistas e antagonistas dos receptores muscarínicos. O Tiotrópio (Figura 9), substância que atua bloqueando o efeito da acetilcolina, é o fármaco anticolinérgico mais conhecido (Rodrigues *et al.*, 2016).

Figura 9 - Tiotrópio



Fonte: <https://chemicalportal.ru/compounds/tiotropiya-bromid>.

#### 4.4 Docking molecular no desenvolvimento de fármacos

Nas últimas décadas, o desenvolvimento de novas tecnologias em conjunto com a disseminação de informações estruturais, químicas e biológicas sobre moléculas bioativas e possíveis alvos moleculares, tem levado a um aumento significativo do uso de abordagens *in silico* no desenvolvimento de fármacos (Pinzi e Rastelli, 2019). Especificamente, métodos computacionais de modelagem molecular têm desempenhado um papel importante em pesquisas científicas atuais, trazendo inúmeros benefícios, como otimização de tempo e redução de gastos (Bhagat *et al.*, 2021).

Na área de Desenho Reacional de Fármacos Baseados em Estruturas (DRBE), o método de *docking* molecular é amplamente utilizado para a avaliação da atividade farmacológica de ligantes sobre um bioreceptor, que geralmente é uma proteína relacionada a fisiopatologia da doença para a qual se deseja desenvolver um tratamento. A técnica pode ser utilizada tanto para o refinamento e otimização de protótipos já identificados, como também para a descoberta de novas substâncias bioativas (Morgon e Coutinho, 2007).

O *docking molecular*, também conhecido como ancoragem molecular ou atracamento molecular, tem como objetivo prever o posicionamento e as diferentes conformações espaciais possíveis de uma molécula bioativa (ligante) dentro do sítio ativo de um receptor alvo. Nesse método, a energia envolvida na formação do complexo proteína-ligante mais estável é quantificada e pode ser usada para estimar a afinidade entre as duas moléculas (Pereira-Júnior, 2021).

Existem quatro diferentes metodologias de *docking* molecular: ligante rígido - proteína rígida, ligante rígido - proteína flexível, ligante flexível - proteína rígida, e ligante flexível - proteína flexível. Ao ser admitida a flexibilidade da proteína e do ligante simultaneamente, maior será quantidade de funções ou variáveis adicionadas, o que aumentará a demanda computacional e o tempo requerido para o cálculo, que usa um algoritmo de busca no espaço conformacional para explorar os graus de liberdade conformacional, rotacional e translacional das duas moléculas e uma função de *score* que avalia a energia envolvida em cada modo de ligação (Silva, 2023).

O processo de formação do complexo proteína-ligante é guiado por efeitos entálpicos e entrópicos relacionados aos diferentes modos de ligação, sendo estes efeitos estimados a partir da energia livre de ligação de Gibbs (Morgon e Coutinho, 2007). A partir do cálculo da variação de energia das diferentes conformações possíveis do ligante dentro do sítio ativo do receptor (Equação 1) é encontrado o modo de ligação que favorece a formação do complexo mais estável ou de menor energia.

$$\Delta G_{Ligação} = G_{complexo} - (G_{receptor} - G_{Ligante}) \quad (1)$$

onde  $\Delta G_{Ligação}$  corresponde a variação da energia livre na formação do complexo,  $G_{Complexo}$  é a energia livre do complexo formado,  $G_{Receptor}$  a energia livre do receptor e  $G_{ligante}$  a energia livre do ligante (Pereira-Júnior, 2021).

O grau de afinidade e a especificidade da ligação entre o ligante e o receptor biológico depende da quantidade e dos tipos de interações intermoleculares presentes, que podem ser mais ou menos favoráveis a formação do complexo. Os tipos de interações intermoleculares mais comuns entre proteínas e ligantes são: interações de Van der Waals, hidrofóbicas, eletrostáticas, iônicas,  $\pi$ - e ligações de hidrogênio. (Guryanov *et al.*, 2016; Fokoue *et al.*, 2020).

## 5 METODOLOGIA

### 5.1 Seleção do receptor e ligantes

Toda a pesquisa foi desenvolvida a partir de revisões bibliográficas em áreas como química de produtos naturais, química medicinal e fitoquímica, usando diferentes ferramentas de busca como Periódicos Capes, *Scielo*, *Web of Science* e *Science Direct*.

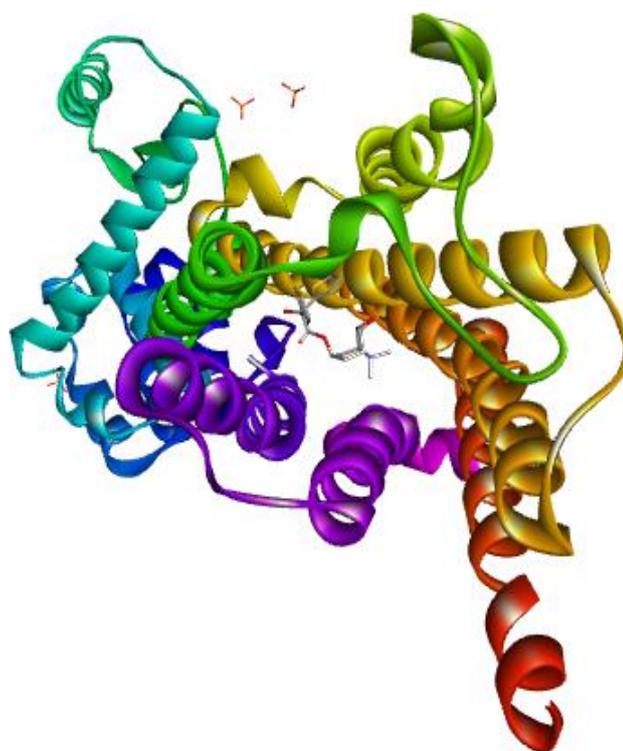
Inicialmente, os metabólitos ativos presentes em *D. ambrosioides* que seriam submetidos ao teste de *docking* molecular foram selecionados através de busca em artigos científicos sobre o perfil fitoquímico da espécie estudada.

Por fim, o receptor biológico alvo foi escolhido com base na fisiopatologia de doenças respiratórias que causam obstrução das vias aéreas. Segundo Rodrigues *et al.* (2016), o receptor muscarínico de acetilcolina (M3) é um dos principais responsáveis pela sinalização da contração da musculatura lisa dos brônquios e, por isso, foi a proteína escolhida para ser submetida ao teste de *docking* molecular com monoterpenos e flavonoides presentes em *D. ambrosioides* (L.), grupos químicos mais abundantes dentre os compostos químicos já identificados na espécie (Kasali *et al.*, 2021).

### 5.2 Tratamento do receptor

A estrutura do receptor muscarínico de acetilcolina (M3) foi obtida no banco de dados *Research Collaboratory of Structure Bioinformatics Protein Data Bank* (RCSB PDB), com resolução 3.4 Å, através do código de identificação 4DAJ (Figura 10). Após baixada, a estrutura cristalográfica foi tratada no software *Chimera*, através da remoção do ligante cocrystalizado Tiotrópio e dos demais artefatos necessários para a realização da ancoragem molecular, sendo a proteína tratada salva em formato *.pdb*.

**Figura 10** – Receptor muscarínico de acetilcolina M3 (PDB id: 4DAJ).



**Fonte:** *Protein Data Bank*, 2023.

### 5.3 Validação do método por *redocking*

Para assegurar que a metodologia *in silico* utilizada nesse trabalho consegue reproduzir a pose biológica de um ligante dentro do sítio ativo do receptor selecionado, foi utilizado o método de *redocking*. De acordo com Silva (2023), esse método de validação consiste em submeter o próprio ligante já cocrystalizado na estrutura do receptor as mesmas condições de ancoragem da metodologia selecionada para a realização do *docking* molecular. O objetivo final é reproduzir ao máximo o acoplamento original do ligante dentro do sítio de ligação em estudo, sendo aceitas metodologias que apresentem valores de  $\text{RMSD} \leq 2,0 \text{ \AA}$  em relação a estrutura cocrystalizada experimentalmente (Morgon; Coutinho, 2007).

Para validação do método utilizado, o complexo receptor-ligante redocado foi inserido no programa *Chimera*, e sobreposto com o receptor cristalizado obtido no banco de dados *Protein Data Bank*. Em seguida, toda a parte proteica foi retirada e calculou-se o *Root Mean Square Deviation* (RMSD) entre as estruturas cocrystalizada e redocada do Tiotrópio.

## 5.4 Tratamento dos ligantes

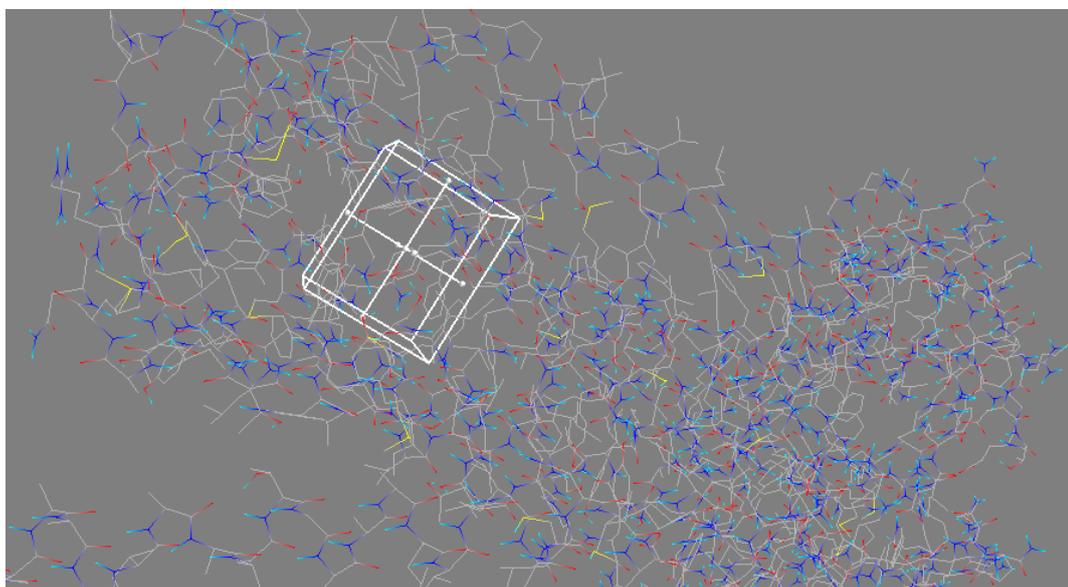
Foram selecionados três flavonoides (Luteolina, Canferol e Quercetina) e três monoterpenos (p-cimeno, 4-careno e Ascaridol) biossintetizados por *D. ambrosioides* para serem submetidos à acoplagem molecular com o receptor 4DAJ. As moléculas foram desenhadas utilizando o programa *MarvinSketch*, sendo adicionado os hidrogênios explícitos e realizada a conversão das estruturas para três dimensões (3D) antes das mesmas serem salvas no formato *.pdb*.

## 5.5 Docking molecular

O receptor 4DAJ e os seis metabólitos de *D. ambrosioides* selecionados foram submetidos à acoplagem “proteína rígida-ligante flexível” utilizando o programa *Autodock Vina* acoplado ao *software PyRx*.

No procedimento experimental, a localização do sítio de ligação foi baseada na posição do ligante Tiotrópio cocristalizado junto com a proteína disponível no *Protein Data Bank*. Desta forma, o tamanho do *gridbox* (Figura 11) foi ajustado no local do sítio de ligação nas dimensões em angstrom: X: 11.0016, Y: 10.0362 e Z: 10.0396 para englobar os aminoácidos aspartato (147), tirosina (148 e 506), serina (151), triptofano (199), asparagina (507) e metionina (509) que são considerados resíduos chave para a interação da macromolécula com o ligante usado como referência (Duarte, 2020).

**Figura 11** – *Gridbox* construído no sítio de ligação do receptor 4DAJ.



**Fonte:** Elaborado pela autora, 2023.

## 5.6 Análise dos Resultados

Depois de processado o *docking* molecular, o modo de ligação que favoreceu a formação do complexo mais estável, ou seja, de menor energia, foi usado para avaliar a afinidade dos ligantes selecionados pelo sítio ativo do receptor 4DAJ. Para isso, no *software Chimera*, as estruturas dos flavonoides e monoterpêneos nas conformações mais estáveis foram complexadas individualmente ao receptor 4DAJ tratado, sendo todos os complexos formados salvos no formato *.pdb*. Em seguida, o programa *Discovery Studio* foi usado para analisar a interação dos ligantes com o sítio de ligação da proteína 4DAJ, sendo também definidos os aminoácidos chave para a formação dos complexos.

## 6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesta pesquisa, foi utilizado *docking* molecular para estudar de forma computacional o comportamento de metabólitos da espécie *D. ambrosioides* dentro do sítio ativo do receptor muscarínico de acetilcolina M3 (4DAJ), macromolécula de destaque no mecanismo de contração e relaxamento do músculo liso das vias aéreas. A partir do estudo *in silico*, foram obtidas informações sobre a espontaneidade da formação do complexo 4DAJ-ligante selecionado e possível ação anticolinérgica destas biomoléculas para atuarem como antagonistas, competindo com a acetilcolina pelo sítio de ligação da proteína alvo.

### 6.1 Validação do método por *redocking*

O procedimento *in silico* utilizado neste trabalho foi validado através do *redocking* do ligante de referência Tiotrópio com a macromolécula 4DAJ. Na tabela 2 são apresentados os resultados obtidos para a ancoragem molecular. O RMSD de 1,78 Å obtido mostra que a função de pontuação utilizada pelo programa *Autodock Vina* no *software PyRx* é adequada para a metodologia abordada e indica que o método pode ser utilizado para avaliar a afinidade de ligação e interação do receptor 4DAJ com os outros ligantes selecionados.

**Tabela 2** – Dados do *redocking* molecular.

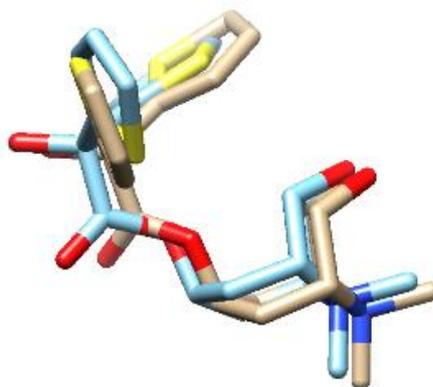
Ligante	Proteína (PDBid)	RMSD	$\Delta G^\circ$
Tiotrópio	4DAJ	1,78 Å	-9,4 kcal/mol

**Fonte:** Elaborado pela autora, 2023.

Além disso, também pode ser observado que o complexo formado entre a proteína 4DAJ e o Tiotrópio apresentou energia livre ( $\Delta G^\circ$ ) de -9,4 kcal/mol, o que mostra a existência de uma grande afinidade e espontaneidade de ligação entre o sítio ativo do receptor muscarínico nos brônquios e o broncodilatador comercializado, que atua como antagonista bloqueando o efeito da acetilcolina.

Na Figura 12 é mostrada a sobreposição estrutural do Tiotrópio cocristalizado junto com a proteína (em cinza) e da conformação mais estável do ligante obtida no procedimento de *redocking* (em azul), sendo observado que o modo de ligação no sítio ativo da macromolécula 4DAJ é similar ao original.

**Figura 12** – Sobreposição do Tiotrópio cocristalizado pelo redocado.



**Fonte:** Elaborado pela autora, 2023.

## 6.2 Afinidade de ligação entre os metabólitos de *D. ambrosioides* e o receptor 4DAJ

Os resultados dos cálculos de energia realizados para as seis moléculas do metabolismo secundário da espécie *D. ambrosioides* são mostrados na Tabela 3, onde pode ser observado que para todos os metabólitos analisados a formação do complexo com o receptor 4DAJ é um processo espontâneo. Além disso, nota-se que a classe química dos flavonoides apresenta maior afinidade de ligação pelo sítio-ativo do receptor biológico em comparação aos monoterpenos. Dentre os flavonoides, a quercetina apresentou a menor energia de ligação com o alvo proteico (-9,1 kcal/mol), valor próximo da energia calculada no procedimento de redocagem para o ligante cocristalizado (-9,4 kcal/mol).

**Tabela 3** – Afinidade de ligação dos ligantes selecionados com o receptor 4DAJ.

Ligante	Classe Química	$\Delta G^\circ$ (kcal/mol)
<i>p</i> -cimeno	Monoterpeno	-6,5
4-careno	Monoterpeno	-6,7
Ascaridol	Monoterpeno	-7,0
Luteolina	Flavonoide	-8,2
Canferol	Flavonoide	-8,4
Quercetina	Flavonoide	-9,1

**Fonte:** Elaborado pela autora, 2023.

### 6.3 Resultados do *docking* molecular e análise das interações químicas

Em Química Medicinal, mais especificamente na área de desenvolvimento de fármacos, o processo de reconhecimento molecular entre os ligantes e seus receptores biológicos pode ser atribuído a formação de interações entre as duas estruturas. As interações intermoleculares podem ser classificadas em: mediadas por forças eletrostáticas propriamente ditas, que incluem interações íon-dipolo e íon-íon, e as forças de *Van der Waals*, que podem ser formadas entre dipolos permanentes (Forças de *Keesom*), entre dipolos permanentes e dipolos induzidos (Forças de *Debye*) e entre dipolos instantâneos e dipolos induzidos (Forças de dispersão de *London*) (Fokoue *et al.*, 2020).

Os principais tipos de interações intermoleculares presentes em sistemas biológicos são as ligações de hidrogênio e as interações hidrofóbicas ( $\pi$ -alquila/ alquila,  $\pi$ - $\sigma$ , e empilhamento  $-\pi$ ) formadas entre estruturas mais apolares. Em termos de energia, as ligações de hidrogênio são as interações mais fortes e importantes, enquanto as interações hidrofóbicas são individualmente fracas, mas devido ao grande número de subunidades hidrofóbicas presentes nas estruturas dos aminoácidos e fármacos, auxiliam no reconhecimento dos ligantes e seus receptores alvo (GUERRA, 2019).

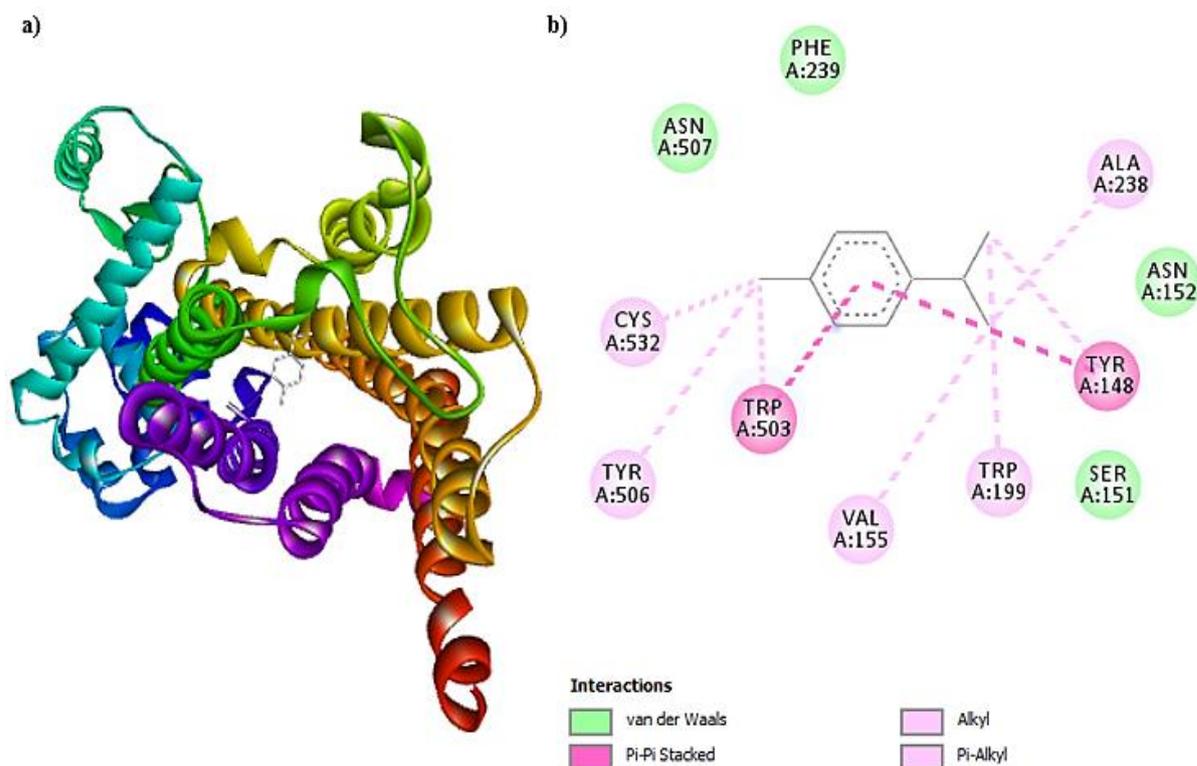
Diante da importância de se identificar e compreender as interações intermoleculares que mediam o reconhecimento molecular em sistemas biológicos, após a realização das simulações de ancoragem molecular das substâncias de *D. ambrosioides* dentro do sítio de ligação do receptor 4DAJ, foram gerados mapas em duas dimensões (2D) que ilustram os tipos de interações intermoleculares que são realizadas entre a proteína alvo e os potenciais ligantes testados no *software Discovery Studio*.

#### 6.3.1 Interação entre o receptor 4DAJ e o *p*-cimeno

A ancoragem molecular do monoterpeneo *p*-cimeno com o alvo molecular 4DAJ (Figura 13a) resultou em uma energia de ligação de  $-6,5$  kcal/mol, indicando que o ligante testado possui afinidade pelo sítio de ligação do receptor muscarínico M3. Na Figura 13b são apresentadas as interações intermoleculares entre os resíduos de aminoácidos do sítio ativo com o ligante *p*-cimeno. É observada a formação de interações de *Van der Waals* com os resíduos ASN (507) e (152), PHE (239) e SER (151) e interações hidrofóbicas do tipo  $\pi$ -alquila/ alquila com os resíduos ALA (238), TRP (199) e (503), VAL (155), TYR (506) e (148) e CYS (532) e

do tipo empilhamento  $-\pi$  com o anel aromático do monoterpene, a partir dos resíduos TRP (503) e TYR (148).

**Figura 13** – Resultado do *Docking* molecular do monoterpene *p*-cimeno. a) complexo formado pelo receptor 4DAJ e o ligante; b) interações intermoleculares responsáveis pela formação espontânea do complexo observado.

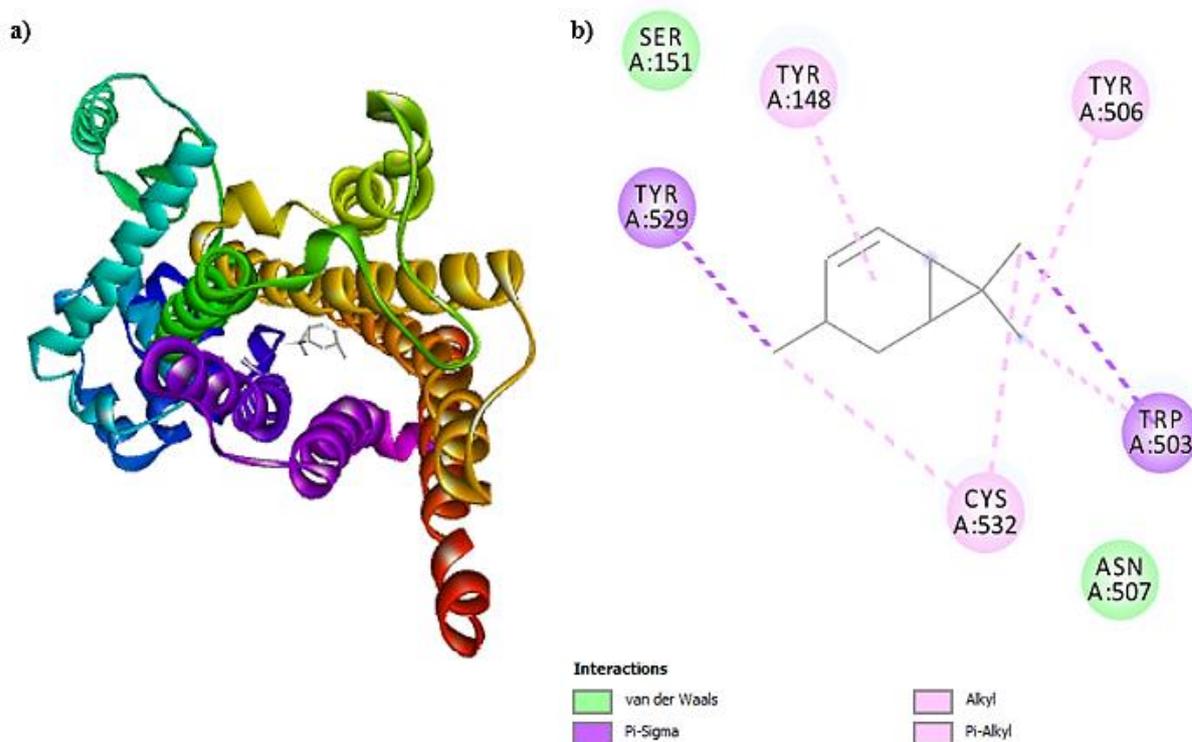


Fonte: Elaborado pela autora, 2023.

### 6.3.2 Interação entre o receptor 4DAJ e o 4-careno

Os resultados obtidos para o *docking* molecular do monoterpene 4-careno com a macromolécula 4DAJ mostram que a formação do complexo proteína alvo-ligante representado na Figura 14a também é favorável energeticamente, apresentando energia de ligação de -6,7 kcal/mol, com indicativo de uma afinidade de ligação um pouco maior em relação ao *p*-cimeno. Na Figura 14b podem ser observadas os aminoácidos chave e os tipos de interações intermoleculares presentes na formação do complexo.

**Figura 14** – Resultado do *Docking* molecular do monoterpene 4-careno. a) complexo formado pelo receptor 4DAJ e o ligante testado; b) interações intermoleculares responsáveis pela formação espontânea do complexo observado.



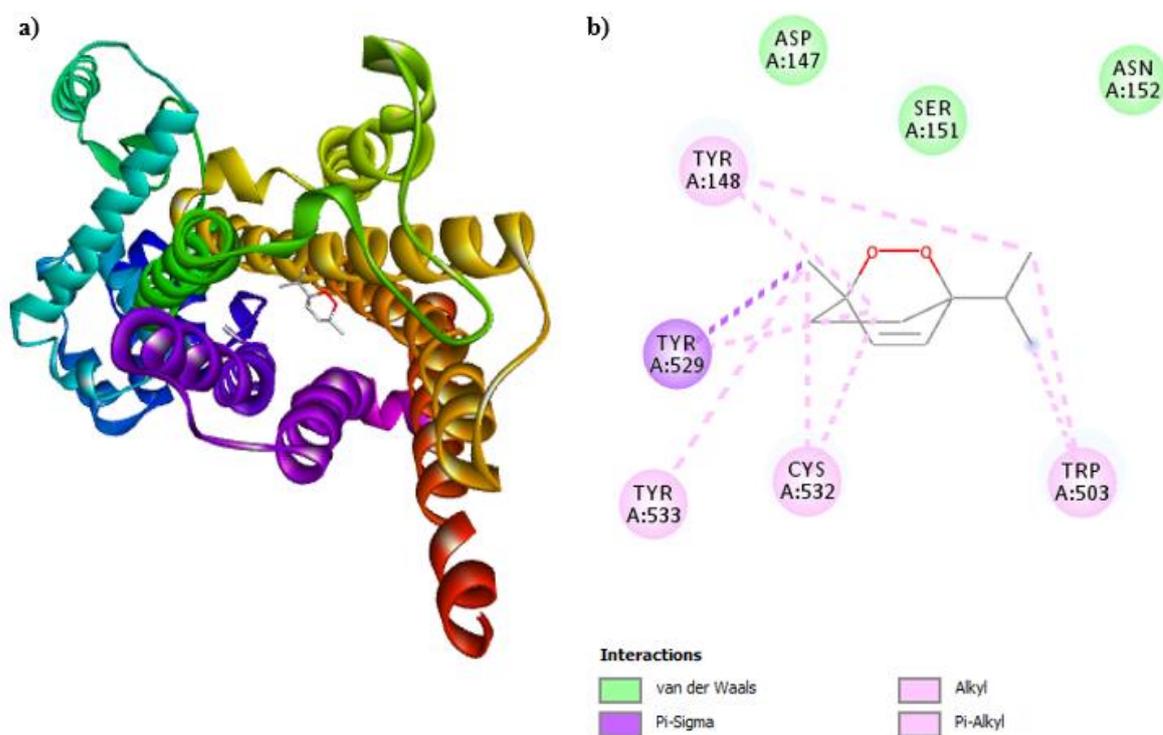
Fonte: Elaborado pela autora, 2023.

Pode ser observado na figura 14b que as interações da macromolécula com o 4-careno segue o mesmo padrão observado para o monoterpene *p*-cimeno, apenas com a formação de interações fracas do tipo *Van der Waals* e hidrofóbicas. Entretanto, a adição de interações hidrofóbicas do tipo  $\pi$ - $\sigma$  com os resíduos TYR (529) e TRP (503) conferem uma maior estabilidade ao complexo formado com o 4-careno.

### 6.3.3 Interação entre o receptor 4DAJ e o Ascaridol

Entre os monoterpenos avaliados, o Ascaridol apresentou a maior afinidade de ligação pelo biorreceptor 4DAJ. A formação do complexo 4DAJ-Ascaridol mostrado na Figura 15a apresentou energia livre de -7,0 kcal/mol, podendo também ser observado na Figura 15b que a formação de interações de *Van der Waals* e hidrofóbicas do tipo  $\pi$ -alquila/alquila e  $\pi$ - $\sigma$  atuam na estabilização do complexo formado.

**Figura 15** – Resultado do *Docking* molecular do monoterpene Ascaridol. a) complexo formado pelo receptor 4DAJ e o ligante; b) interações intermoleculares responsáveis pela formação espontânea do complexo observado.

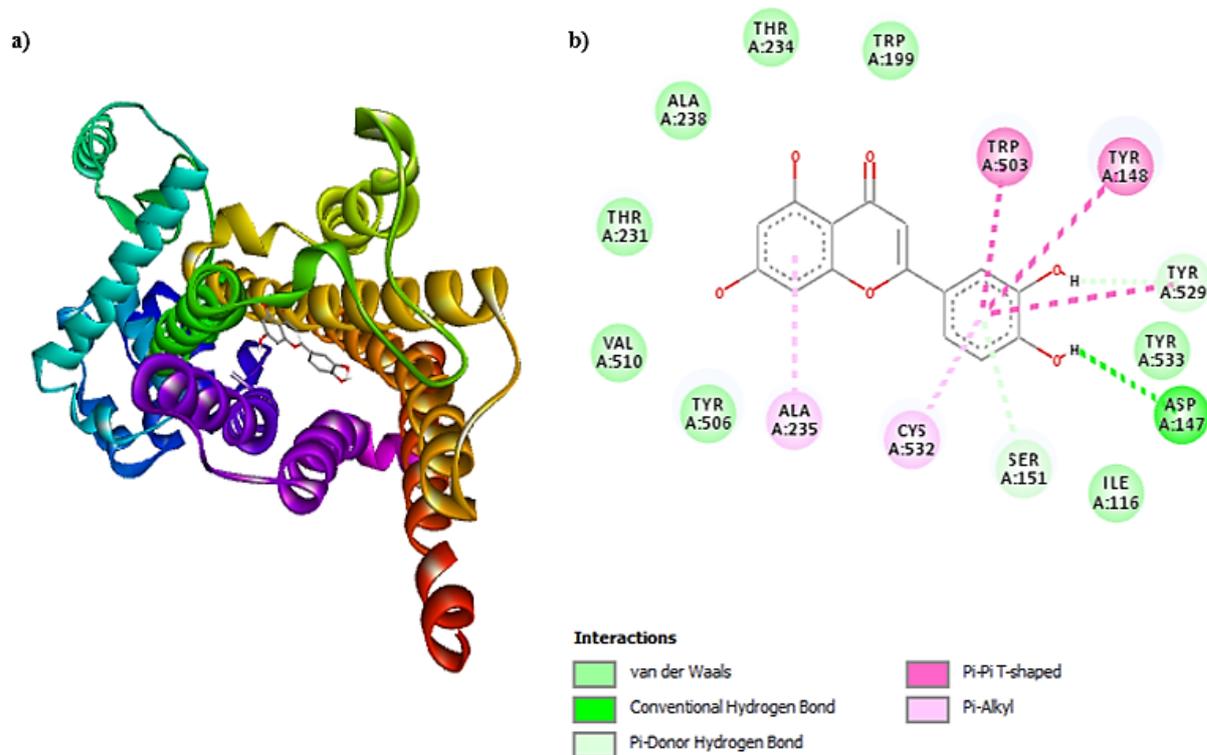


Fonte: Elaborado pela autora, 2023.

#### 6.3.4 Interação entre o receptor 4DAJ e a Luteolina

O acoplamento molecular do flavonoide Luteolina no sítio ativo do alvo proteico 4DAJ apresentou energia livre de ligação de -8,2 Kcal/mol, mostrando que a formação do complexo da Figura 16a é energeticamente favorável. Como pode ser observado na Figura 16b, as interações químicas que conferem estabilidade a este complexo são interações aromáticas do tipo empilhamento T de elétrons, ligação de hidrogênio, interações de Van der Waals e  $\pi$ -alquila.

**Figura 16** – Resultado do *Docking* molecular do flavonoide Luteolina. a) complexo formado pelo receptor 4DAJ e o ligante testado; b) interações intermoleculares responsáveis pela formação espontânea do complexo observado.



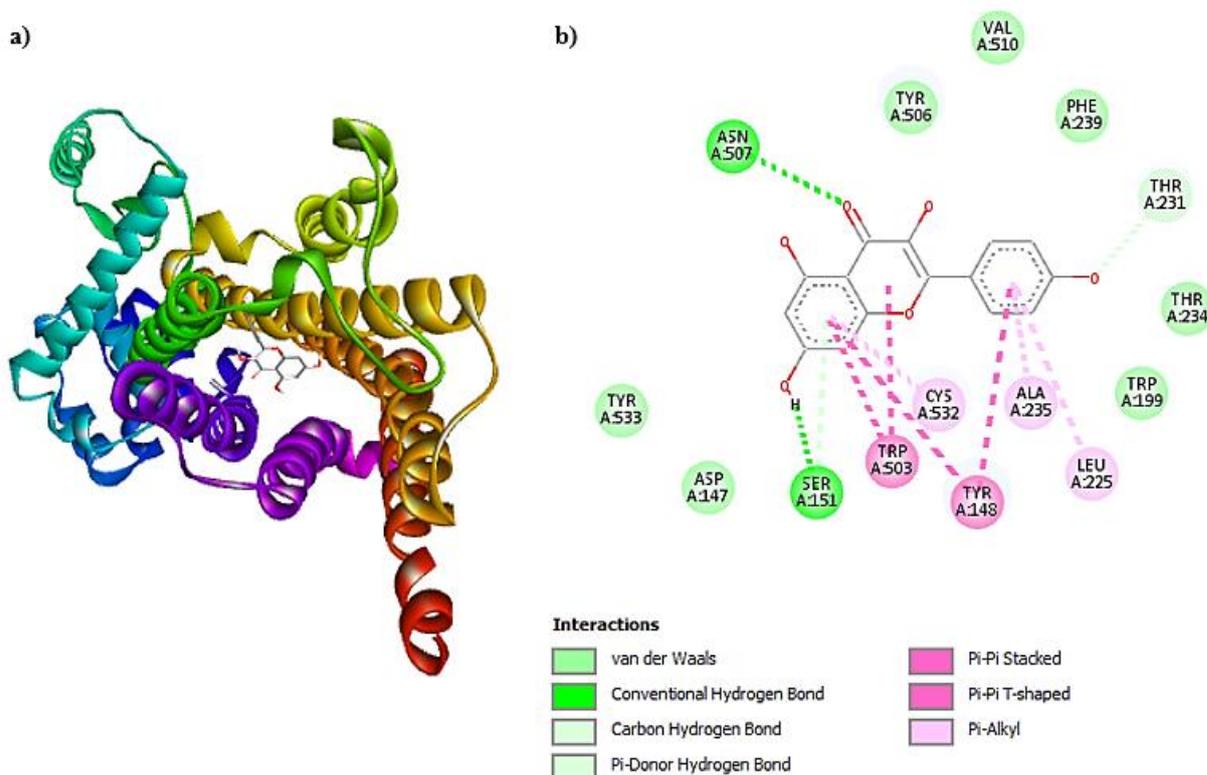
**Fonte:** Elaborado pela autora, 2023.

É observada uma maior afinidade de ligação da Luteolina pelo sítio de ligação da macromolécula 4DAJ em comparação aos monoterpenos avaliados, principalmente devido a formação de uma interação forte do tipo ligação de hidrogênio no resíduo ASP (147). Além disso, mais interações do tipo *Van Der Waals* e uma maior quantidade de interações aromáticas estão presentes na formação do complexo, incluindo três interações de empilhamento T de elétrons com os resíduos TRP (503) e TYR (148) e (529).

### 6.3.5 Interação entre o receptor 4DAJ e o Canferol

O resultado extraído do *docking* molecular do flavonoide Canferol mostrou que a formação do complexo 4DAJ-Canferol mostrado na Figura 17a é energeticamente favorável, com energia de ligação de -8,4 Kcal/mol, o que evidenciou a existência de uma afinidade de ligação desta molécula com o receptor biológico muscarínico M3.

**Figura 17** – Resultado do *Docking* molecular do flavonoide Canferol. a) complexo formado pelo receptor 4DAJ e o ligante testado; b) interações intermoleculares responsáveis pela formação espontânea do complexo observado.



Fonte: Elaborado pela autora, 2023.

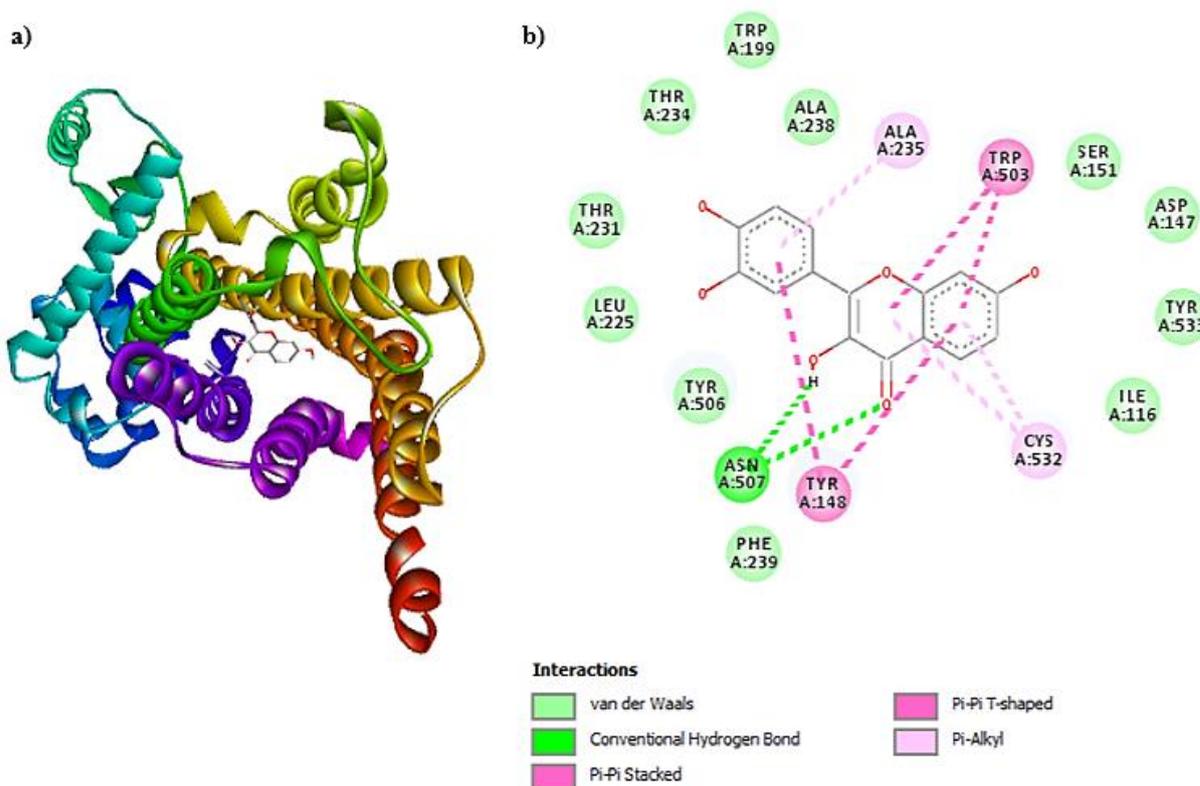
As interações intermoleculares que atuam na estabilização do complexo e reconhecimento da macromolécula pelo ligante são mostradas na Figura 17b. São observadas interações aromáticas dipolo-dipolo do tipo empilhamento  $-\pi$  e T formadas a partir dos aminoácidos TRP (503) e TYR (148) e  $\pi$ -alquila com os resíduos CYS (532), ALA (235) e LEU (225), além de outros tipos de interações fracas. Entretanto, destaca-se a formação de duas interações fortes do tipo ligação de hidrogênio formadas entre a macromolécula 4DAJ com o Canferol por meio dos resíduos proteicos ASN (507) e SER (151) que são determinantes para a boa estabilidade obtida na formação do complexo.

### 6.3.6 Interação entre o receptor 4DAJ e a Quercetina

Entre as substâncias do metabolismo secundário de *D. ambrosioides* que foram submetidas ao teste de *docking* molecular, a Quercetina apresentou a melhor afinidade de

ligação pelo receptor, apresentando energia livre de -9,1 Kcal/mol na formação do complexo mostrado na Figura 18a.

**Figura 18** – Resultado do *Docking* molecular do flavonoide Quercetina. a) complexo formado pelo receptor 4DAJ e o ligante testado; b) interações intermoleculares responsáveis pela formação espontânea do complexo observado.



**Fonte:** Elaborado pela autora, 2023.

Na Figura 18b podem ser observadas a quantidade e os tipos de interações que são formadas entre a Quercetina e os resíduos de aminoácidos no sítio de ligação do receptor 4DAJ. Nota-se mais uma vez a formação de uma grande quantidade de interações aromáticas hidrofóbicas do tipo  $\pi$ -alquila e empilhamento de elétrons. É observado também, de forma semelhante ao que ocorreu com o ligante Canferol, a formação de duas interações fortes do tipo ligação de hidrogênio, desta vez ambas a partir do resíduo ASN (507). Entretanto, a maior quantidade de interações de Van der Waals presentes no complexo 4DAJ-Quercetina ( $\Delta G^\circ = -9,1$  Kcal/mol) em relação ao complexo 4DAJ-Canferol ( $\Delta G^\circ = -8,4$  Kcal/mol), resultou em um aumento expressivo da afinidade de ligação.

## 6.4 Análise dos resultados

Ao analisar os resíduos chave para a interação do receptor 4DAJ com os metabólitos de *D. ambrosioides* testados, percebe-se uma maior similaridade entre a forma de interação dos flavonoides e do Tiotrópio em comparação com os monoterpenos.

Quando são comparados os tipos de interações envolvidas na formação dos complexos 4DAJ-Monoterpeno e 4DAJ-Flavonoide é possível observar que para os monoterpenos a interação ocorreu apenas a partir de interações fracas do tipo de *Van Der Walls* e hidrofóbicas, o que pode estar relacionado a menor polaridade da estrutura química destes ligantes em comparação aos flavonoides, que também interagem com o receptor a partir de ligações de hidrogênio, que são energeticamente mais fortes e conferem um acréscimo de estabilidade na formação dos complexos.

Embora as interações de Van Der Waals e do tipo hidrofóbicas sejam consideradas fracas individualmente, a soma das energias dessas interações contribui de forma significativa para o reconhecimento molecular, diminuição da entropia do sistema e, conseqüentemente, para a estabilização dos complexos formados, acarretando também em uma boa afinidade de ligação entre os monoterpenos e a proteína alvo (Silva, 2023).

Os flavonoides apresentaram uma maior afinidade relativa pela proteína 4DAJ devido à força das ligações de hidrogênio (H-X). Esse tipo de interação intermolecular é resultante da atração de um átomo de hidrogênio H por um elemento de caráter eletronegativo X, onde é formada uma carga parcial positiva intensa sobre o átomo de H. A presença de dipolos acentuados faz com que seja necessária uma grande quantidade de energia para causar ruptura dessas interações (Fokoue *et al.*, 2020).

## 7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A avaliação *in silico* realizada neste trabalho mostra que monoterpenos e flavonoides encontrados na espécie *D. ambrosioides* (L.) podem se ligar a estrutura do receptor muscarínico M3 (4DAJ), possivelmente atuando como antagonistas da acetilcolina pelo sítio ativo da macromolécula, inibindo a sinalização celular para a contração da musculatura lisa dos brônquios, apresentando, portanto, uma potencial ação broncodilatadora.

Analisando as energias livre de ligação resultante do acoplamento dos metabólitos secundários da espécie *D. ambrosioides* (L.) no sítio de ligação do receptor 4DAJ pode ser observado que a formação de todos os complexos proteína-ligante analisados é espontânea, sendo formados diferentes tipos de interações entre ligantes e o sítio ativo do receptor biológico, com destaque para a Quercetina que resultou na formação do complexo mais estável ( $\Delta G^\circ = -9,1$  Kcal/mol).

Os complexos formados entre a proteína alvo e os monoterpenos se deu a partir de um conjunto de interações do tipo hidrofóbicas e de Van der Waals, que embora sejam consideradas individualmente fracas, desempenharam um papel importante no reconhecimento molecular e diminuição da entropia do sistema. Na ancoragem dos flavonoides, além de interações fracas, que também contribuíram para a diminuição da energia livre, foram observadas a formação de interações fortes do tipo ligações de hidrogênio, o que resultou em uma maior estabilização dos complexos.

Na medicina popular, *D. ambrosioides* (L.) geralmente é utilizada no tratamento de doenças respiratórias por via oral ou inalatória. Uma possível justificativa para a eficácia das diferentes formas de administração da planta é que quando o uso ocorre por via inalatória o usuário disponibiliza compostos voláteis (monoterpenos) para se ligarem ao receptor, enquanto no uso oral o consumo inclui as duas classes, com provável maior concentração de flavonoides, devido à perda por volatilização dos terpenoides.

Desta forma, conclui-se que todos os flavonoides e monoterpenos analisados neste trabalho possuem potencial broncodilatador, o que pode ser um indicativo de que estas classes químicas são responsáveis pelas propriedades terapêuticas atribuídas a espécie no tratamento de doenças que causam obstrução das vias aéreas. Entretanto, é necessária a realização de experimentos *in vitro* e *in vivo* para avaliar aspectos farmacocinéticos e confirmar os resultados apresentados nesta pesquisa.

## REFERÊNCIAS

- ALBINO, A. M. *et al.* Prospecção fitoquímica do extrato etanólico das inflorescências e folhas de *Amaranthus viridis* L. (Amaranthaceae). **SOUTH AMERICAN Journal of Basic Education, Technical and Technological**, v.2, n.2, p.74-83, 2015.
- ASSAIDI, A. *et al.* *Chenopodium ambrosioides* induces an endothelium-dependent relaxation of rat isolated aorta. **Journal of Integrative Medicine**, v.17, n.2, p.115-124, 2019.
- BHAGAT, R. T. *et al.* Molecular *Docking* in Drug Discovery. **JPRI**, v.33, n.30B, p.46-58, 2021.
- BELTRESCHI, L.; LIMA, R. B.; CRUZ, D. D. Traditional botanical knowledge of medicinal plants in a “quilombola” community in the Atlantic Forest of northeastern Brazil. **Environ Dev Sustain**, v.21, p.1185–1203, 2019.
- BEZERRA, J. W. A. *et al.* Chemical composition, antimicrobial, modulator and antioxidant activity of essential oil of *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v.65, p.58-64, 2019.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. **Política e Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos**. Brasília: Ministério da Saúde, 2016. 190 p.
- CARNEIRO, F. M.; SILVA, M. J. P.; BORGES, L. L.; ALBERNAZ, L. C.; COSTA, J. D. P. Tendências dos estudos com plantas medicinais no Brasil. **Revista Sapiência**, v.3, n.2, p.44-75, 2014.
- CARVALHO E SILVA, M. A. G. *et al.* Anti-Inflammatory Effect Of Mastruz (*Chenopodium Ambrosioides*) Extract In Respiratory Distress Syndrome. **International Journal of Pharmaceutical Science Invention**, v.5, n.5, p.34-39, 2016.
- DEGENHARDT, R. T. *et al.* Characterization and evaluation of the cytotoxic potential of the essential oil of *Chenopodium ambrosioides*. **Rev. bras. farmacogn.**, v.26, n.1, p.56-61, 2016.
- DUARTE, G. D. **Síntese, caracterização e avaliação in silico de derivados de chalconas heterocíclicas com potenciais broncodilatadores**. Dissertação (Mestre em Biotecnologia) - Universidade Federal da Paraíba. 2020.
- FERREIRA, E. C. *et al.* Local Knowledge and use of medicinal plants in a rural community in the agreste of Paraíba, northeast Brazil. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v.2021, 2021.
- FOKOUE, H. H. *et al.* Há algo novo no reconhecimento molecular aplicado à química medicinal?. **Quim. Nova**, v.43, n.1, p.78-89, 2020.
- FUENTES-BAZAN, S.; UOTILA, P.; BORSCH, T. A novel phylogeny-based generic classification for *Chenopodium sensu lato*, and a tribal rearrangement of *Chenopodioideae* (*Chenopodiaceae*). **Willdenowia**, v.42, n.1, p.5-24, 2012.

- GHAREEB, M. A. *et al.* A New Kaempferol Glycoside with Antioxidant Activity from *Chenopodium ambrosioides* Growing in Egypt. **Oriental Journal of Chemistry**, v.32, n.6, p.3053-3061, 2016.
- GROZEVA, N. H.; CVETANOVA, Y. G. Karyological and morphological variations within the genus *Dysphania* (Chenopodiaceae) in Bulgaria. **Acta Bot. Croat.**, v.72, n.1, p.49–69, 2013.
- GUERRA, T. M.. ESTUDOS DE DOCKING MOLECULAR DE DERIVADOS DA TIAZOLIDINA COMO POTENCIAIS INIBIDORES DA ENZIMA CRUZAÍNA DE *Trypanosoma cruzi*. Monografia. UFRPE, Universidade Federal Rural de Pernambuco. Serra Talhada. 2019.
- GURYANOV, I.; FIORUCCI, S.; TENNIKOVA, T. Receptor-ligand interactions: Advanced biomedical applications. **Materials Science and Engineering C**, v.68, p.890-903, 2016.
- HO, Y. K. *et al.* Analysis of the water-soluble vitamins B<sub>2</sub> and B<sub>6</sub> of crops in the Amaranthaceae family by HPLC-FLD. **International Food Research Journal**, v.28, n.3, p.503-505, 2021.
- HUSSAIN, A. N. *et al.* Comparative SEM and LM foliar epidermal and palynomorphological studies of Amaranthaceae and its taxonomic implications. **Microsc. Res. Tech.**, v.81, n.5, p. 474-485, 2018.
- JARDIM, C. M. *et al.* Composition and Antifungal Activity of the Essential Oil of the Brazilian *Chenopodium ambrosioides* L. **J Chem Ecol**, v.34, p.1213–1218, 2008.
- KANDSI, F. *et al.* Phytochemical Analysis, Antispasmodic, Myorelaxant, and Antioxidant Effect of *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin and Clemants Flower Hydroethanolic Extracts and Its Chloroform and Ethyl Acetate Fractions. **Molecules**, v. 26, n.23, 2021.
- KANDSI, F. *et al.* *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin and Clemants: bridging traditional knowledge, photochemistry, preclinical investigations, and toxicological validation for health benefits. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v.397, p.969–1001, 2023.
- KASALI, F. M. *et al.* Ethnomedical uses, chemical constituents, and evidence-based pharmacological properties of *Chenopodium ambrosioides* L.: extensive overview. **Future Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.7, n. 153, 2021.
- LACERDA-NETO, L. J. *et al.* Myorelaxant Effect of the *Dysphania ambrosioides* Essential Oil on *Sus scrofa domestica* Coronary Artery and Its Toxicity in the *Drosophila melanogaster* Model. **Molecules**, v.26, n.7, 2021.
- MAGALHÃES, K. N. *et al.* Medicinal plants of the Caatinga, northeastern Brazil: Ethnopharmacopeia (1980–1990) of the late professor Francisco José de Abreu Matos. **Journal of Ethnopharmacology**, v.237, p.314–353, 2019.
- MORGON, N. H.; COUTINHO, K. **Métodos de Química Teórica e Modelagem Molecular**. São Paulo: Livraria da Física, 2007.

MOSCA, V. P.; LOIOLA, M. I. B. Uso popular de plantas medicinais no Rio Grande do Norte, Nordeste do Brasil. **Revista Caatinga**, v.22, n.4, p.225-234, 2009.

MOSYAKIN, S. L.; CLEMANTS, S. E. New nomenclatural combinations in *Dysphania* R.Br. (Chenopodiaceae): Taxa occurring in North America. **Ukrainian Botanical Journal**, v.59, n.4, p.380-385, 2002.

MOSYAKIN, S. L.; CLEMANTS, S. E. Further transfers of glandular-pubescent species from *Chenopodium* Subg. *Ambrosia* to *Dysphania* (Chenopodiaceae). **Journal of the Botanical Research Institute of Texas**, v.2, n.1, p.225-431, 2008.

NAZISH, M. *et al.* Palyno-morphological investigations of halophytic taxa of Amaranthaceae through SEM from Salt range of Northern Punjab, Pakistan. **Microsc Res Tech.**, v.82, n.3, p.304-316, 2019.

OLIVEIRA, M. S. *et al.* Mortalidade por doença respiratória crônica no Brasil: tendência temporal e projeções. **Rev Saude Publica**, v.56, p.1-13, 2022.

ORIOLA, A. O.; OYEDEJI, A.O. Plant-Derived Natural Products as Lead Agents against Common Respiratory Diseases. **Molecules**, v.27, n.10, p.1-36, 2022.

PEREIRA-DE-MORAIS, L. *et al.* Myorelaxant action of the *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants essential oil and its major constituent  $\alpha$ -terpinene in isolated rat trachea. **Food Chemistry**, v.325, 2020.

PEREIRA-JÚNIOR, P. G. **Utilização de docking molecular na avaliação do potencial anti-diarreico de metabólitos secundários de *Psidium guineense* Sw.** Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Química) – Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2021.

PILON, A. C. *et al.* Metabolômica de plantas: métodos e desafios. **Quim. Nova**, v.43, n.3, p.329-354, 2020.

PINZI, L.; RASTELLI, G. Molecular Docking: Shifting Paradigms in Drug Discovery. **Int. J. Mol. Sci.**, v.20, n.18, 2019.

QUARESMA *et al.* Caracterização farmacognóstica, fitoquímica e avaliação *in silico* da atividade de monoterpenos isolados da espécie *Dysphania ambrosioides* (L.) Mosyakin & Clemants. **Research, Society and Development**, v.10, n.8, p. e9210816715, 2021.

REYES-GARCÍA, J. *et al.* Maintenance of intracellular  $Ca^{2+}$  basal concentration in airway smooth muscle (Review). **International Journal of Molecular Medicine**, v.42, n.6, p.2998-3008, 2018.

RODRIGUES, L. U. *et al.* Receptores muscarínicos na doença pulmonar obstrutiva crônica: o que é importante saber da biologia à prática clínica?. **Rev Med**, v.95, n.3, p.128-32, 2016.

SÁ, R. D.; SOARES, L. A. L.; RANDAU, K. P. Óleo essencial de *Chenopodium ambrosioides* L.: estado da arte. **Rev Ciênc Farm Básica Apl.**, v.36, n.2, p.267-276, 2015.

SANDOVAL-ORTEGA, M. H. *et al.* Amaranthaceae (Caryophyllales) richness and distribution in the state of Aguascalientes, Mexico. **Botanical Sciences**, v.95, n.2, p.203-220, 2017.

SILVA, J. N. **Avaliação *in silico* de flavonoides da *Passiflora incarnata* L. com potencial ansiolítico e antidepressivo.** Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Química) – Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2023.

SIMÕES, C. M. O. *et al.* **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento.** Porto Alegre: Artmed, 2017.

UOTILA, P. *et al.* Phylogeny, biogeography and systematics of Dysphanieae (Amaranthaceae). **TAXON**, v.70, n.3, p.526–551, 2021.

VARGAS, M. A. O. *et al.* Capacitação dos técnicos de enfermagem para as melhores práticas no uso de broncodilatadores em pacientes mecanicamente ventilados. **Enferm**, v.21, n.3, p.505-512, 2012.

VENTURA, A. L. M. *et al.* Sistema colinérgico: revisitando receptores, regulação e a relação com a doença de Alzheimer, esquizofrenia, epilepsia e tabagismo. **Rev. Psiq. Clín.** v.37, n.2, p.66-72, 2010.

WILLIAMS, D. M.; RUBIN, B. K. Clinical Pharmacology of Bronchodilator Medications. **Respiratory Care**, v.63, n.6, p.641-654, 2018.