



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

ANA PAULA SARAIVA DE OLIVEIRA

ESTUDO QUÍMICO E FARMACOLÓGICO DE PLANTAS DO NORDESTE DOS
GÊNEROS *Senna* E *Chamaecrista*: DESREPLICAÇÃO E ENSAIOS *In Silico*

FORTALEZA

2023

ANA PAULA SARAIVA DE OLIVEIRA

ESTUDO QUÍMICO E FARMACOLÓGICO DE PLANTAS DO NORDESTE DOS
GÊNEROS *Senna* E *Chamaecrista*: DESREPLICAÇÃO E ENSAIOS *In Silico*

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Ceará, como requisito para obtenção do título de Doutor em Química.
Área de concentração: Química

Orientador: Prof. Dra. Otília Deusdenia Loiola Pessoa.

Coorientador: Prof. Dra Maria Goretti de Vasconcelos Silva.

FORTALEZA

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- O45e Oliveira, Ana Paula Saraiva de.
Estudo químico e farmacológico de plantas do nordeste dos gêneros Senna e Chamaecrista: desreplicação e ensaios in silico / Ana Paula Saraiva de Oliveira. – 2023.
111 f. : il. color.
- Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Programa de Pós-Graduação em Química, Fortaleza, 2023.
Orientação: Profa. Dra. Otília Deusdenia Loiola Pessoa.
Coorientação: Profa. Dra. Maria Goretti de Vasconcelos Silva.
1. Senna. 2. Chamaecrista. 3. In silico. 4. Drug-like. 5. Flavonoides. I. Título.

CDD 540

ANA PAULA SARAIVA DE OLIVEIRA

ESTUDO QUÍMICO E FARMACOLÓGICO DE PLANTAS DO NORDESTE DOS
GÊNEROS *Senna* E *Chamaecrista*: DESREPLICAÇÃO E ENSAIOS *In Silico*

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Ceará, como requisito para obtenção do título de Doutor em Química.
Área de concentração: Química

Aprovada em: 19/05/2023.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dra. Otília Deusdenia Loiola (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dra. Maria Goretti de Vasconcelos Silva (Coorientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Alberto José Cavalheiro
Universidade Estadual de São Paulo (UNESP)

Prof. Dr. Norberto de Kassio Vieira Monteiro
Universidade Estadual de São Paulo (UNESP)

Prof. Dra. Maria Teresa Salles Trevisan
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profa. Dra. Selene Maia de Moraes
Universidade Estadual do Ceará (UECE)

Aos meus pais, Leia e Salomão

Aos meus avós, Maria e Manoel

AGRADECIMENTOS

A Deus por todas as oportunidades, força e coragem para prosseguir em toda a minha jornada acadêmica. A fé em Jesus me sustenta e me trouxe até aqui. À minha família, meus pais, Leia e Salomão, meus irmãos, Eduardo, Jefferson e Rafael e avós, Maria e Manoel, pelo apoio incondicional, por acreditar nos meus sonhos e por me dar muito mais do que eu mereço.

À Profa Maria Goretti Vasconcelos Silva pela orientação, paciência, ensinamentos e por ser sempre atenciosa e tratar com respeito e cordialidade todos os seus alunos.

À Profa Otília Deusdenia Loiola por ter aceitado me orientar por meio do programa e pela prestatividade em auxiliar na execução do trabalho.

Às que foram por muito tempo minhas colegas de apartamento, Adrya e Vanessa por serem amigas, irmãs e apoio. Ao André e Laís por sempre serem os melhores companheiros de jornada acadêmica, de vida e incentivadores. À Beatriz, Ellen, Lidiane, Magda e Milena por serem amigas tão leais e presentes desde que nos conhecemos. À Nilmara pela amizade e por ser tão disponível em me ajudar. À Eloisa por ser uma irmã/amiga há tanto tempo

Ao professor Francisco Ferreira da UFPA por ter me incentivado a seguir carreira acadêmica quando eu ainda era aluna de IC.

Às membras do LPNQMed, alunas de IC e à Gleizi e Daniele pela parceria, por tirar dúvidas e por serem tão generosas em compartilhar o que sabem.

Aos membros do Nubbe e IQ-UNESP de Araraquara por todo o suporte para execução dos experimentos de HPLC, LC-MS e RMN. Ao Prof. Alberto Cavalheiro pela orientação e por ter me recebido tão bem no período que estive no Nubbe.

Ao Prof. Norberto de Kássio e Lucas Lima pelas simulações de *docking*.

Ao LOE, especialmente à Cassia e Celina, pela execução dos testes de citotoxicidade.

Ao Programa de Pós-Graduação em Química e secretárias do programa por toda a assistência e suporte, principalmente no período de pandemia e pós-pandemia.

À Funcap pela bolsa concedida e ao projeto INCT BioNat (CNPq 465637/2014-0).

À CAPES pela extensão de bolsa concedida.

Aos membros da banca por terem aceitado avaliar o trabalho.

Dai-me a acuidade da inteligência,
a faculdade de lembrar-me,
o método e a facilidade do estudo,
a profundidade na interpretação
e uma graça abundante de expressão.

Fortificai o meu estudo,
dirigi o seu curso, aperfeiçoi o seu fim,
Vós que sois verdadeiro Deus
e verdadeiro homem,
e que viveis nos séculos dos séculos.

- São Tomás de Áquino

RESUMO

As plantas do gênero *Senna* e *Chamaecrista* são uma fonte de uma vasta quantidade de compostos com efeito anticancer, anti-inflamatório e antiviral, como flavonoides, antraquinonas e terpenos. A investigação das propriedades medicinais desses compostos por meio da combinação de métodos experimentais e *in silico* torna mais completo o conhecimento das suas potencialidades e mecanismos de ação, valorizando a composição das espécies do gênero e contribuindo para o uso de plantas medicinais no tratamento de doenças. A desreplicação dos extratos etanólicos de partes botânicas de *Senna cearensis* Afr. Fern. e *Senna pendula* I&B foi feita por meio de HPLC-DAD-ESI-MS, possibilitando a notação de vinte e oito (28) compostos das classes das catequinas, procianidinas, flavonoides glicosilados e proantocianidinas. O fracionamento cromatográfico por HPLC-DAD dos extratos dos frutos e folhas da *S. cearensis* e a investigação das frações obtidas utilizando *molecular network*, possibilitou a notação de compostos glicosilados e ácidos orgânicos. Os compostos luteolina-7-O- β -rutinosídeo e cassiaflavan-(4 β →8)-epicatequina foram isolados do extrato das folhas de *Senna pendula*, com identificações inequívocas por espectrometria de massas e ressonância magnética nuclear de hidrogênio e carbono. O efeito citotóxico dos extratos foi testado, com os melhores resultados para os extratos das folhas e frutos da *Senna cearensis*. Ferramentas da química medicinal foram empregadas para a obtenção das propriedades físico-químicas e farmacocinéticas de 164 compostos identificados em oito (08) espécies do gênero *Chamaecrista*. Com base nas propriedades previstas, quatro flavonoides (apigenina, fisetina, luteolina e ononina) foram submetidos a estudos de *docking* e dinâmica molecular estabelecendo suas interações com o DNA (PDB ID: 1BNA). O *docking* molecular comprovou que a ononina possui alta afinidade pelo B-DNA, com um valor de ΔG de $-9,3 \text{ kcal.mol}^{-1}$, em comparação com os demais flavonoides. As simulações de dinâmica molecular dos complexos flavonoides-DNA mostraram que os flavonoides interagiram com o DNA por ligações de hidrogênio, interações hidrofóbicas e empilhamento π . O estudo aqui apresentado de *S. cearensis* e *S. pendula* enriquece as informações a respeito da diversidade química do gênero e amplia a aplicabilidade das espécies. As propriedades obtidas nos ensaios *in silico* comprovaram o potencial “*drug like*” dos compostos identificados nas espécies de *Chamaecrista* em estudo e forneceram uma visão de quão rica é a composição química das espécies deste gênero.

Palavras-chave: *Senna*; *Chamaecrista*; *In silico*; *drug-like*; flavonoides; desreplicação.

ABSTRACT

The plants of *Senna* and *Chamaecrista* genus are a source of several compounds with anticancer, anti-inflammatory, and antiviral effects, such as flavonoids, anthraquinones and terpenes. The investigation of their medicinal properties by the combination of experimental and *in silico* methods brings a more complete knowledge of the potentialities and means of action, valuing the composition of the genus and increasing the confidence for the use of medicinal plants in the treatment of diseases. The classic phytochemistry using HPLC-ESI-MS and HPLC-DAD enabled the identification of twenty-eight (28) compounds in the ethanolic extracts of aerial parts from *Senna cearensis* Afr.Fern and *Senna pendula* I&B. The chromatographic fractionation of the fruits and leaves of *Senna cearensis* and analysis of their LC-MS results by molecular network provided the identification of additional glycosylated compounds and organic acids. The compounds luteolin-7-*O*- β -rutinoside and cassiaflavan-(4 β →8)-epicatechin were isolated for in the *Senna pendula* leaves extract, with unequivocally identification by mass spectrometry and hydrogen and carbon nuclear magnetic resonance. The cytotoxic effect of the extracts was tested against tumoral cell lines, with the best results of antitumor activity for the extracts of the leaves and fruits of *Senna cearensis*. In the study of *Chamaecrista* genus, online tools of medicinal chemistry were used for predicting the physico-chemical and pharmacokinetic properties of 164 compounds identified in eight (08) species of the genus. Based on the predicted properties, four flavonoids (apigenin, fisetin, luteolin, and ononin) were submitted to molecular docking and molecular dynamics simulations with DNA (PDB ID:1BNA). The molecular docking verified that ononin have higher affinity with B-DNA, with an ΔG value of $-9,3 \text{ kcal.mol}^{-1}$, compared to the other flavonoids. The molecular dynamics simulations of the complex flavonoid-DNA showed that the flavonoids interacted with the DNA by hydrogen bonds, hydrophobic interactions and π stacking. The study of the species de *S. cearensis* and *S. pendula* enhances the data about the diversity of the species and increases their applicability. The properties obtained in the *in silico* studies testified the drug-like potential of compounds found in the species of *Chamaecrista* genu18s and provide an overview of how rich the composition of the species from this genus are.

Keywords: *Senna*; *Chamaecrista*; *In silico*; drug-like; flavonoids; dereplication.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– (a) nodo de uma rede molecular; (b) <i>Mirror plot</i> de comparação do espectro MS2 da procianidina C1 identificada nas folhas da <i>Senna cearensis</i> com a biblioteca do GNPS.....	13
Figura 2	– Fluxograma do fracionamento do extrato etanólico das folhas da <i>S. pendula</i> em coluna Sephadex LH-20.....	17
Figura 3	– Cromatograma HPLC-DAD dos extratos etanólicos da <i>S. cearensis</i> : (a) talos, (b) frutos, (c) folhas (d) flores.....	22
Figura 4	– Cromatograma HPLC-ESI-MS dos extratos etanólicos da <i>S. cearensis</i> : (a) folhas, (b) talos, (c) frutos (d) flores.....	23
Figura 5	– Representação estrutural dos compostos identificados nos extratos de <i>Senna</i>	30
Figura 6	– Representação estrutural dos compostos identificados nos extratos de <i>Senna</i>	31
Figura 7	– Cromatograma HPLC-DAD do (a) SPF (b) SSP1 e (c) 6SPF.....	32
Figura 8	– LC-MS e espectro UV do (a) SSP1 e (b) SSP2.....	35
Figura 9	– (a) Representação estrutural da luteolina-7-O- β -rutinosídeo (SSP1), (b) cassiaflavan-(4 β →8)-epicatequina (SSP2).....	36
Figura 10	– Espectro MS2 do composto SSP2 e respectivos fragmentos dos picos.....	37
Figura 11	– <i>Molecular network</i> gerado para o fracionamento das folhas da <i>Senna cearensis</i>	39
Figura 12	– <i>Clusters</i> e compostos identificados por <i>molecular network</i> no modo negativos para as frações das folhas da <i>Senna cearensis</i>	40
Figura 13	– <i>Clusters</i> e compostos identificados por <i>molecular network</i> no modo negativo para frações dos frutos da <i>Senna cearensis</i>	41
Figura 14	– Gráfico de IC ₅₀ na linhagem (a) SNB-19 para a amostra ScFr e (b) HCT-116 para a amostra ScFo.....	47
Figura 15	– Ilustração de reações metabólicas de fármacos.....	52

Figura 16 – Gráfico gerado pela SwissADME para a rutina.....	55
Figura 17 – Gráfico de drug-likeness score gerado pela Molsoft para a rutina.....	55
Figura 18 – Representação estrutural dos compostos selecionados para estudos de docking e dinâmica molecular.....	66
Figura 19 – Distribuição das espécies (%) no pH de 1 a 14 para (a) Apigenina (b) Fisetina (c) Luteolina (d) Ononina.....	70
Figura 20 – Estruturas das espécies protonadas usadas nas simulações: (a) Apigenina (b) Fisetina (c) Luteolina.....	70
Figura 21 – Melhores poses para o B-DNA com os ligantes (a) apigenina, (b) fisetina, (c) luteolina, (d) nobiletina e (e) ononina.....	71
Figura 22 – Determinação RMSD para (a) DNA-apigenina (b) DNA-fisetina (c) DNA-Luteolina (d) DNA-nobiletina (e) DNA-ononina. As simulações foram realizadas em triplicata (preto, vermelho e verde).....	73
Figura 23 – Energia Potencial de Interação (IPE), com desvio padrão, presente nos complexos DNA-API, DNA-FIS, DNA-LUT, DNA-NOB e DNA-ONO....	74
Figura 24 – Principais interações nos complexos (a) DNA-Apigenina (b) DNA-Fisetina (c) DNA-Luteolina (d) DNA-Nobiletina e (e) DNA-Ononina.....	76

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	– Identificação botânica, locais de coleta e números de registro das exsiccatas.....	14
Tabela 2	– Condições cromatográficas utilizadas.....	15
Tabela 3	– Gradiente de solvente no fracionamento dos frutos e folhas da <i>Senna cearensis</i>	18
Tabela 4	– Compostos identificados por LC-MS nos extratos dos frutos, flores, folhas e talos da <i>Senna cearensis</i> e nas folhas da <i>Senna pendula</i>	26
Tabela 5	– Comparação dos valores de deslocamento químico de RMN 13C (150 MHz) e RMN 1H (600 MHz) composto SSP1 (solvente CD3OD) com a literatura.....	34
Tabela 6	– Comparação dos valores de deslocamento químico de RMN 13C (150 MHz) e RMN 1H (600 MHz) do sólido SSP2 (DMSO-D6) com a literatura (MOURA et al, 2022).....	37
Tabela 7	– Perfil químico para as frações das folhas da <i>Senna cearensis</i> com base no <i>molecular network</i>	42
Tabela 8	– Perfil fitoquímico para as frações dos frutos da <i>Senna cearensis</i> com base no <i>molecular network</i>	44
Tabela 9	– Percentual de inibição do crescimento (IC%) dos compostos frente as linhagens tumorais nas concentrações únicas de 100 µg/mL (para as frações), 10 µg/mL (substâncias puras)	47
Tabela 10	– Plataformas on-line gratuitas de propriedades farmacocinéticas e ADME.....	53
Tabela 11	– Propriedades da regra de Lipinski de acordo com a classe dos compostos...	63
Tabela 12	– Propriedades físico-químicas dos compostos selecionados.....	67
Tabela 13	– Propriedades ADME dos compostos selecionados.....	68
Tabela 14	– Os menores valores de energia de ligação livre (ΔG) entre o receptor de DNA com os compostos selecionados.....	72

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

6SPF	Fração 6 da cromatografia em coluna com Sephadex®
ADME	Absorção, distribuição, metabolismo, excreção
BBB	<i>Blood Brain Barrier</i>
CD ₃ OD	Metanol deuterado
d	Dubleto
dd	Duplo dubleto
ddd	Dupleto de dupletos
DEPTQ	<i>Distortionless Enhancement by Polarization Transfer with retention of quaternaries</i>
DMSO-D ₆	Dimetilsulfóxido deuterado
F _{sp} ³	Fração de carbono sp ³
GI	Absorção gastrointestinal
GNPS	<i>Global Natural Products Social Molecular Networking</i>
HCT-116	Carcinoma de cólon – humano
HPLC	<i>High-performance liquid chromatography</i>
HPLC-ESI-MS	<i>High-performance liquid chromatography coupled to electrospray</i>
IC ₅₀	Concentração inibitória média
IPE	Energia potencial de interação
LHA	Ligação de hidrogênio aceitadora
LHD	Ligação de hidrogênio doadora
Log P	Partição de uma substância entre as fases aquosa e orgânica (água/n-octanol)
LR	Ligação rotacional
PC3	Carcinoma de próstata
PDB	<i>Protein databank</i>
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
RMSD	<i>Root Mean Square Deviation</i>
s	Singleto
SCFL	Extrato etanólico <i>Senna cearensis</i> flores

SCFO	Extrato etanólico <i>Senna cearensis</i> folhas
SCFR	Extrato etanólico <i>Senna cearensis</i> frutos
SCTA	Extrato etanólico <i>Senna cearensis</i> talos
SNB-19	Linha celular de Glioblastoma
SPF	Extrato etanólico <i>Senna pendula</i> folhas
TPSA	<i>Topological polar surface area</i>

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	OBJETIVOS	16
2.1	Objetivo Geral	16
2.2	Objetivos Específicos	16
3	CAPÍTULO 1. PERFIL METABÓLICO E EFEITO ANTITUMORAL DE <i>Senna pendula</i> E <i>Senna cearensis</i>	17
3.1	Gênero <i>Senna</i> e as espécies <i>Senna pendula</i> e <i>Senna cearensis</i>	17
3.2	<i>Molecular network</i> como ferramenta para identificação de compostos orgânicos	18
3.3	Material e Métodos	21
3.3.1	<i>Coleta</i>	21
3.3.2	<i>Extração</i>	21
3.3.3	<i>Cromatografia Líquida de Alta Eficiência</i>	22
3.3.4	<i>HPLC-ESI-MS</i>	23
3.3.5	<i>Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)</i>	23
3.3.6	<i>Fracionamento por coluna em Sephadex para isolamento de compostos do extrato etanólico de <i>Senna pendula</i></i>	23
3.3.7	<i>HPLC no modo preparativo para isolamento de compostos do extrato etanólico da fração F6SSPF</i>	24
3.3.8	<i>Fracionamento das folhas e frutos da <i>Senna cearensis</i></i>	25
3.3.9	<i>Criação das redes moleculares para estudo químico dos extratos das folhas e frutos de <i>Senna cearensis</i></i>	25
3.3.10	<i>Ensaio de Citotoxicidade in vitro</i>	26
3.4	Resultados e Discussão	28
3.4.1	<i>Desreplicação dos extratos das espécies <i>Senna cearensis</i> e <i>Senna pendula</i></i> ...	28
3.4.2	<i>Isolamento de flavonoides das folhas do extrato etanólico da <i>Senna pendula</i></i>	39
3.4.2.1	<i>Elucidação estrutural do composto SSP1</i>	40
3.4.2.2	<i>Elucidação estrutural do composto SSP2</i>	43
3.4.3	<i>Fracionamento dos frutos e folhas da <i>Senna cearensis</i> e uso de molecular network como ferramenta para desreplicação</i>	45
3.4.4	<i>Ensaio citotóxico In vitro</i>	53

4	CAPÍTULO 2. SCREENING VIRTUAL DE FLAVONOIDES DO GÊNERO <i>Chamaecrista</i>: ADME, PROPRIEDADES FARMACOCINÉTICAS, INTERAÇÕES DOS COMPLEXOS FLAVONOIDE-DNA POR DOCKING E DINÂMICA MOLECULAR.....	55
4.1	Estudo <i>in silico</i> dos compostos do gênero <i>Chamaecrista</i>.....	55
4.2	Estudo <i>in silico</i> de moléculas com potencial farmacológico: uma revisão...	56
4.2.1	<i>Regra dos cinco de Lipinski e regra de Veber</i>.....	57
4.2.2	<i>ADME (Absorção, Distribuição, Metabolismo e Excreção)</i>.....	58
4.2.3	<i>Fração sp^3</i>.....	59
4.2.4	<i>Ferramentas de pesquisa de propriedades <i>in silico</i></i>.....	60
4.2.5	<i>Molecular docking e dinâmica molecular no estudo de produtos naturais</i>....	63
4.2.6	<i>Molecular docking</i>.....	63
4.2.7	<i>Dinâmica molecular</i>.....	64
4.3	Material e Métodos.....	66
4.3.1	<i>Banco de dados com compostos</i>.....	66
4.3.2	<i>Regra dos cinco de Lipinski</i>.....	66
4.3.3	<i>Propriedades ADME e score de drogabilidade</i>.....	66
4.3.4	<i>Detalhes computacionais</i>.....	67
4.3.4.1	<i>Otimização das moléculas</i>.....	67
4.3.4.2	<i>Docking molecular</i>.....	67
4.3.4.3	<i>Simulações de Dinâmica Molecular</i>.....	68
4.4	Resultados e Discussão.....	70
4.4.1	<i>Banco de dados dos compostos e propriedades farmacocinéticas</i>.....	70
4.4.2	<i>Propriedades ADME e drug-likeness score</i>.....	74
4.4.3	<i>Avaliação do potencial antitumoral dos flavonoides por molecular docking e dinâmica molecular</i>.....	76
4.4.3.1	<i>Distribuição de espécies de acordo com o pH</i>.....	76
4.4.4	<i>Docking molecular e dinâmica molecular</i>.....	78
5	CONCLUSÃO	84
	REFERÊNCIAS	86
	ANEXO A- ESPECTROS DE NMR DO COMPOSTO ISOLADO SSP1..	93
	ANEXO B- ESPECTROS DE NMR DO COMPOSTO ISOLADO SSP2...	94
	ANEXO C- TABELA COM AS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICA	95

DO BANCO DE DADOS DE COMPOSTOS.....	
ANEXO D- CAPA DO ARTIGO PUBLICADO.....	110

1 INTRODUÇÃO

As plantas são uma fonte natural de uma grande diversidade de compostos com efeito farmacológico, como flavonoides, antraquinonas, terpenoides e alcaloides que possuem diversas aplicações medicinais comprovadas e muitas outras a serem exploradas. O estudo da composição química e a comprovação do uso medicinal dessas plantas é importante para desenvolver fármacos provenientes de produtos naturais mais acessíveis, mantendo a eficiência e segurança dos medicamentos (LEESON; SPRINGTHORPE, 2007). As espécies do gênero *Chamaecrista* e *Senna* são exemplos de plantas utilizadas popularmente como analgésicas, anticonvulsivantes e laxantes, entre outros usos, principalmente em países em desenvolvimento na África, Ásia e América do Sul (LIMA *et al*, 2022; MACEDO; SILVA; SILVA, 2016).

O estudo do potencial farmacológico de compostos oriundos de plantas pode ser feito não somente por experimentação em bancada, mas também empregando ferramentas de estudo *in silico*. Muitas plataformas computacionais e softwares disponíveis *on-line* são utilizados para prever propriedades físico-químicas, farmacocinéticas, possíveis alvos de moléculas no organismo humano e propriedades relacionadas à absorção de um composto no corpo humano em seus primeiros estágios (DULSAT *et al*, 2023). Estas simulações também auxiliam no entendimento das interações dessas moléculas com determinados alvos de enzimas, proteínas e até mesmo o DNA, mostrando de que forma essa molécula pode interagir e ser eficaz para uma determinada ação terapêutica (MA; CHAN; LEUNG, 2011; ASIAMA *et al*, 2023).

Neste contexto, este trabalho utilizou diferentes abordagens na busca de compostos bioativos: a fitoquímica clássica, desreplicação e ferramentas da química medicinal. A composição química e o potencial antitumoral de *Senna cearensis* e *Senna pendula* foram investigadas por meio de técnicas cromatográficas e espectroscópicas e o potencial antitumoral de compostos de oito (08) espécies do gênero *Chamaecrista* foi avaliado por meio de ensaios *in silico*, incluindo *docking* e dinâmica molecular.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Investigar o perfil químico e farmacológico de plantas nativas do Nordeste do Brasil do gênero *Senna* e *Chamaecrista* e contribuir para o conhecimento da aplicabilidade dessas plantas como fonte de compostos com efeito antitumoral utilizando técnicas cromatográficas, espectrocópicas e *in silico*. Para atingir este objetivo, os seguintes objetivos específicos foram propostos.

2.2 Objetivos Específicos

- a) Investigar a composição química das espécies *Senna cearensis* e *Senna pendula*;
- b) Identificar os compostos isolados por meio de técnicas cromatográficas e espectrocópicas
- c) Avaliar o efeito antitumoral de biocompostos por meio de ensaios *in vitro*.
- d) Investigar a composição química de frações de frutos e folhas da *Senna cearensis* por *molecular network*.
- e) Realizar o estudo *in silico* de compostos encontrados em plantas do gênero *Chamaecrista* utilizando uma biblioteca *in-house* de compostos identificados em plantas do gênero;
- f) Fazer a predição das propriedades *drug-like* e farmacocinéticas desses compostos utilizando ferramentas de predição dessas propriedades;
- g) Investigar a interação de compostos oriundos de produtos naturais com o DNA por meio de simulações de *molecular docking* e dinâmica molecular.
- h) Contribuir para o conhecimento do potencial farmacológico e da rica composição das plantas do gênero *Senna* e *Chamaecrista* por meio da divulgação dos resultados em periódicos científicos.

3 CAPÍTULO 1. PERFIL METABÓLICO E EFEITO ANTITUMORAL DE *Senna Pendula* E *Senna Cearensis*

3.1 Gênero *Senna* e as espécies *Senna pendula* e *Senna cearensis*

As espécies do gênero *Senna* (família: Fabaceae) são numerosas, aproximadamente 300 espécies fazem parte do gênero, e amplamente distribuídas ao redor do mundo, principalmente em regiões subtropicais. As plantas do gênero são encontradas na Ásia, África, América do Sul. Além do uso popular e cientificamente reconhecido como purgativo, as espécies de *Senna* também são usadas para tratar outras doenças, como epilepsia, hipertensão, dermatoses e febres. A vasta aplicação farmacológica das espécies de *Senna* se deve à sua rica composição em alcaloides, flavonoides, antraquinonas, terpenos, esteróis e outras classes de compostos, resultando em atividade dos extratos das espécies como agentes antioxidantes, antitumorais, laxativos, anti-inflamatórios (ALSHEHRI *et al*, 2022). Embora haja muitos estudos na literatura sobre esse gênero, ainda existem espécies de *Senna* com potencial inexplorado, como a *Senna cearensis* Afr. Fern e a *Senna pendula* I&B. *Senna cearensis* é uma espécie nativa do Brasil, mais especificamente da Caatinga e é conhecida em algumas regiões como flor-de-besouro ou pé-de-bode (MACEDO; SILVA; SILVA, 2016

Até o presente momento, somente três trabalhos na literatura relatam a composição química da *S. cearensis*. Um estudo do potencial alelopático e composição fenólica do extrato aquoso das folhas da *S. cearensis* feito por Torquato e colaboradores (2020); uma descrição do perfil químico do extrato metanólico das flores *S. cearensis* por Franca, Cavalheiro e Silva (2021) e um estudo da bioatividade e composição do extrato metanólico das flores da *S. cearensis* (FRANCA *et al*, 2022). Torquato e colaboradores (2020) identificaram os seguintes compostos: ácido gálico, ácido clorogênico, ácido cafeíco, ácido elágico, catequina, rutina, quercetrina e luteolina nas folhas da *S. cearensis*. Os autores comparam o perfil químico dos extratos durante o período seco e chuvoso. Franca, Cavalheiro e Silva (2021) descreveram o perfil químico de sete espécies de *Senna*, incluindo o extrato da *S. cearensis*, em que os autores identificaram, por UPLC-QTOF-MS, flavonoides e proantocianidinas nas flores, são eles: quercetina 3,4'-diglicosídeo, rutina, quercetina-3-O- β -D-glucopiranosídeo e miricetina. No trabalho mais recente, a bioatividade e atividade antioxidante das flores *S. cearensis* foram relatadas por Franca *et al* (2022). Em ambos os trabalhos, foram identificados compostos pertencentes à classe dos flavonoides. A

investigação de espécies de *Senna* como fármacos terapêuticos naturais é relacionada a presença de metabólitos secundários, tais como compostos fenólicos e flavonoides que são benéficos para sua atividade antioxidante.

A *Senna pendula* (também conhecida popularmente como canudo-de-pito e fedegoso) é uma espécie amplamente distribuída na América do Sul, podendo ser encontrada em todas as regiões do Brasil. Essa planta também é cultivada como planta ornamental. Apesar de fazer parte de um gênero amplamente estudado por seus efeitos farmacológicos, a *Senna pendula* ainda é pouco explorada na literatura quanto a sua composição química e aplicações medicinais (RAWA *et al.*, 2019).

Atualmente, três artigos na literatura descrevem a bioatividade de extratos da *Senna pendula* e um artigo utiliza *S. pendula* para produção de biomassa. Dineshkumar e colaboradores (2021) utilizaram as sementes de *S. pendula* como biomassa para produzir um biocarvão. Monteiro e colaboradores (2018) descrevem a toxicidade e bioatividade de diferentes extratos das flores, caule e folhas da *S. pendula*. No trabalho, os extratos apresentaram bons resultados para toxicidade contra *Artemia salina*, atividade antioxidante e anticolinesterásica. Rawa e colaboradores (2019) descreveram o potencial anticolinesterásico de extratos das folhas e galhos da *Senna pendula* e ressaltam a espécie como amplamente distribuída na Malásia como planta ornamental, sendo o seu uso medicinal ainda pouco explorado no país. Ambos os autores descrevem bons resultados de bioatividade da espécie, porém pouco é relatado a respeito da sua composição química. Nascimento e colaboradores (2020) estudaram a atividade antimicrobiana e antifúngica da *S. pendula* juntamente com outras espécies de *Senna* e *Cassia*. Monteiro (2018) identificou alguns flavonoides em diferentes extratos das *S. pendula* e isolou um terpeno e dois flavonoides de diferentes extratos da planta. Portanto, na literatura, por ora, somente trabalhos relacionados à atividade da *S. pendula* foram publicados, sem entrar em detalhes a respeito da sua composição.

3.2 Molecular network como ferramenta para identificação de compostos orgânicos

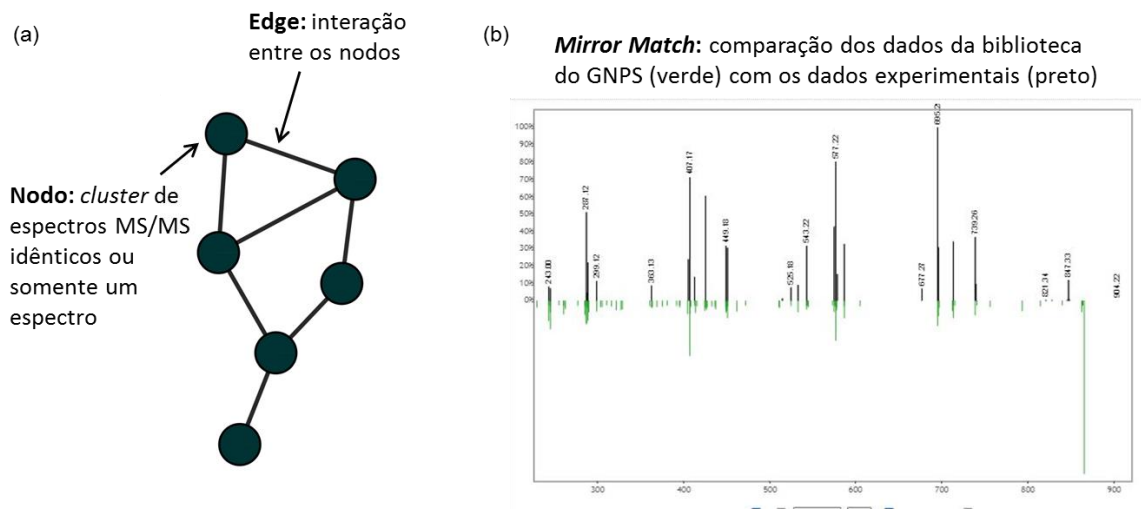
As redes moleculares (*molecular network*) vêm sendo uma ferramenta de uso crescente na notação de produtos naturais a partir de dados de LC-MS/MS. Essa abordagem utiliza o agrupamento de dados de fragmentações MS/MS por semelhança em nodos e clusters, criando uma rede molecular e comparando os dados de fragmentação com diversas bibliotecas de milhares de compostos que estão em constante expansão com a adição de novos dados. O uso dessa ferramenta acelera o processo de identificação de metabólitos conhecidos

em uma grande quantidade de dados simultaneamente, auxilia no isolamento guiado de compostos, estudos de biossíntese, identificação de compostos bioativos e entre outros (PILON *et al*, 2021). As redes moleculares são criadas no GNPS, que é uma plataforma de análise, armazenamento e compartilhamento de dados de MS/MS (WANG *et al*, 2016). Na literatura são encontradas publicações explicando como submeter os dados na plataforma, os formatos de dados aceitos, protocolos e programas utilizados e o que significam cada um dos termos usados na geração e nos resultados de *molecular network* como, por exemplo, o trabalho de Aron e colaboradores (2020).

Na criação da rede molecular, a plataforma agrupa os fragmentos de MS/MS em nodos, que são *clusters* que contém espectros idênticos e esses nodos estão relacionados aos outros nodos de acordo com sua semelhança espectral, atribuída pelo *cosine*. O *cosine* é um índice de 0 a 1 (em que 1 significa que os espectros são idênticos) que leva em consideração o íon precursor, fragmentos e intensidade dos picos. Assim, os espectros são agrupados na rede molecular de acordo com seu espaço químico, como pode ser visualizado na Figura 14. A notação é feita com a comparação dos fragmentos aos dados presentes nas bibliotecas associadas à plataforma e essa comparação é exibida em um *mirror plot* do espectro de referência com o espectro dos dados submetidos (ARON *et al*, 2020). A Figura 1 exemplifica um *cluster* obtido pela plataforma GNPS e o *mirror plot*.

O uso do GNPS como ferramenta de desreplicação de produtos naturais torna esse processo mais rápido e com maior assertividade na notação dos compostos ao utilizar os fragmentos de MS² na comparação com dados da literatura. Considerando a imensidão de compostos descritos, seja numa biblioteca *on-line* ou *in-house*, alguns dados importantes podem passar despercebidos devido a este ser um processo trabalhoso e análise combinada dos dados de MS e MS² ser ainda mais trabalhosa pelo grande número de fragmentos a serem analisados. As redes moleculares como ferramenta ainda possibilitam a análise e comparação mais intuitiva de frações ou de diferentes partes de uma planta ou espécies de planta com adição de variáveis como sazonalidade ou localização.

Figura 1. (a) nodo de uma rede molecular; (b) *Mirror plot* de comparação do espectro MS² da procianidina C1 identificada nas folhas da *Senna cearensis* com a biblioteca do GNPS.



Fonte: Elaborado pelo autor.

3.3 Material e Métodos

3.3.1 Coleta

O material botânico das espécies de *Senna* selecionadas para estudo foi coletado em diferentes locais do Nordeste brasileiro. As plantas foram coletadas pela professora Maria Goretti de Vasconcelos Silva do Departamento de Química Analítica e Físico-química da UFC e pelo Prof. Alberto José Cavaleiro do Departamento de Química Orgânica da UNESP-Araraquara. Os dados de coleta das plantas encontram-se na Tabela 1. As exsiccatas referentes as espécies citadas encontram-se depositadas no Herbário Prisco Bezerra do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará.

Tabela 1. Identificação botânica, locais de coleta e números de registro das exsiccatas

Espécie	Local de coleta	Data de coleta	Nome popular	Número de registro
<i>Senna cearensis</i> Afr. Fern.	Buriti dos Montes- Piauí	22/06/2022	Flor-de- Besouro, Pé-de- Bode	*
<i>Senna pendula</i> (Willd.) Irwin & Barneby	Serra das Almas- Ceará	01/05/2013	Canudo-de- apito, aleluia	54075

*Aguardando resposta do Herbário Prisco Bezerra-UFC

Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

3.3.2 Extração

Para a desreplicação das partes da *Senna cearensis* Afrn. e empregou-se 100 mg de material botânico (seco e triturado), que foi macerado e misturado com 5 mL de etanol, sendo então submetido a extração assistida por ultrassom por 30 minutos. O extrato foi mantido em repouso, o material não dissolvido separado após centrifugação, o solvente evaporado e o extrato seco em um concentrador de amostras (Solab) a 33 °C com pulverização de gás nitrogênio.

As folhas de *Senna pendula* I&B (folhas) foram secas, trituradas e extraídas com hexano e subsequentemente por 10 dias com etanol, o material foi então filtrado e concentrado em rotaevaporador. Para obtenção do extrato para os testes de citotoxicidade, as

folhas, talos e folhas de *Senna cearensis* Afr. Fern. (seco e triturado) foram submetidas a extração com etanol por 7 dias, o material foi então filtrado e concentrado em rotaevaporador.

3.3.3 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

Cromatógrafo líquido de alta eficiência (HPLC-DAD) SHIMADZU, detector arranjo de diodos UV-VIS, injetor automático SIL-20A, Bomba LC-20AT, Módulo CBM-20A, e aquisição de dados usando o software LabSolutions, LC Real Time Analysis. As análises dos padrões e dos extratos das espécies estudadas foram realizadas utilizando-se a coluna analítica Phenomenex Luna[®] 5 µm C18 (250 mm x 4,6 mm, 5 µm). O detector foi utilizado na região do UV-VIS, com os cromatogramas registrados em 254, 350 e 420 nm. Acetonitrila grau HPLC (Vetec e Teddia). Todos os solventes utilizados são grau HPLC: etanol HPLC (Supelco, Merck), acetonitrila HPLC (J. T. Baker). A água ultrapura foi obtida utilizando um sistema de purificação *Millipore* (Merck).

Esta metodologia foi baseada em Franca, Cavalheiro e Silva (2021) que utilizaram este método na desreplicação de extratos de *Senna*. Como fase móvel foi utilizada água com 0,1% de ácido fórmico (solvente A) e acetonitrila (solvente B) com 0,1% de ácido fórmico. O gradiente utilizado está especificado abaixo (Tabela 2), sendo que os extratos foram preparados em uma concentração de 5 mg/mL e as frações e compostos isolados com concentração de 1 mg.mL⁻¹, utilizando etanol HPLC como solvente, a 30°C, a uma vazão de 0,8 mL/min. Os espectros de UV foram obtidos no comprimento de onda de 254, 350 e 420 nm. O volume de injeção das amostras foi de 10 µL.

Tabela 2. Condições cromatográficas utilizadas

Tempo (min)	Solvente A (Água 0,1 % de ácido fórmico)	Solvente B (Acetonitrila 0,1% de ácido fórmico)
0,01	97 %	3%
30	55 %	45 %
40	0 %	100 %
45	0 %	100 %
50	0 %	100 %

Fonte: Elaborado pelo autor.

3.3.4 HPLC-ESI-MS

As análises por HPLC-MS e HPLC-MS/MS foram realizadas em um cromatógrafo líquido de alta eficiência SHIMADZU, detector arranjo de diodos UV-VIS SPD-M20A, injetor automático SIL-20A, Bomba LC-20AD, detector Módulo CBM-20A acoplado a um espectrômetro de massa AmaZon SL (Bruker) com fonte ESI, operando nos modos negativo e positivo. Para realização das medidas foi utilizada a coluna Phenomenex Luna[®] 5 µm C18 (250 mm x 4,6 mm, 5 µm). As condições cromatográficas são as mesmas descritas na Tabela 2. As amostras foram injetadas numa concentração de 1 mg.mL⁻¹.

3.3.5 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)

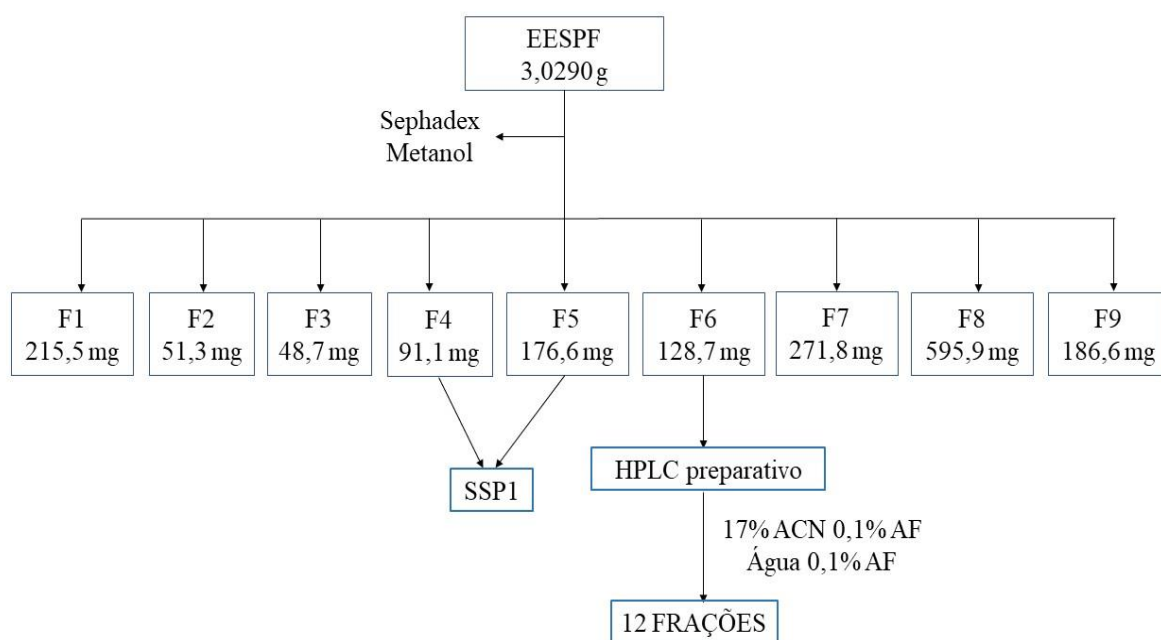
Os espectros de RMN ¹H e RMN ¹³C unidimensionais e bidimensionais foram obtidos na plataforma instrumental de RMN do Instituto de Química da UNESP na cidade de Araraquara-SP. O equipamento utilizado foi um espectrômetro Bruker Avance III HD 600, com sonda criogênica TCI, operando na frequência de 600 MHz para ¹H e 150 MHz para ¹³C. No preparo de amostras, foi utilizado o solvente deuterado metanol (CD₃OD, Sigma-Aldrich) e dimetilsulfóxido ((CD₃)₂SO, Sigma-Aldrich). A medida foi feita para as frações cromatográficas: SSP1 (2.4 mg) e SSP2 (3.1 mg). O padrão de hidrogenação dos carbonos em RMN ¹³C foi determinado pela técnica DEPTq (*Distortionless Enhancement by Polarization Transfer with retention of quaternary carbon*).

3.3.6 Fracionamento por coluna em Sephadex para isolamento de compostos do extrato etanólico de *Senna pendula*

O extrato etanólico das folhas da *Senna pendula* foi submetido a um fracionamento por cromatografia em coluna por exclusão molecular com Sephadex[®] LH-20 como fase estacionária e metanol como fase móvel. 3,0290 g de extrato foram solubilizados em 12 ml de metanol e em seguida inserido no topo da coluna. Foram coletadas 10 frações, que após análise em CCD foram agrupadas em 9 frações, após ser constatado que a fração 8 e 9 possuem perfil cromatográfico semelhante (fluxograma na Figura 2). As frações foram secas em rotaevaporador e em seguida pesadas e analisadas por CCD e HPLC. Após análise em HPLC, verificou-se que as frações 4 e 5 (ambos sólidos da cor marrom-avermelhado) são compostos isolados. Após análise de RMN e LC-MS das duas frações, certificou-se de que se

tratava da mesma substância, sendo a diferença entre elas a quantidade de impurezas presente em baixa quantidade nas frações.

Figura 2. Fluxograma do fracionamento do extrato etanólico das folhas da *S. pendula* em coluna Sephadex LH-20.



Fonte: Elaborado pelo autor.

3.3.7 HPLC no modo preparativo para isolamento de compostos do extrato etanólico da fração F6SSPF

A fração 6 (F6SSPF) do fracionamento em coluna Sephadex LH-20 das folhas *S. pendula* (Figura 2) foi selecionado para separação em HPLC preparativo. A coluna preparativa utilizada na separação foi uma coluna preparativa Phenomenex Luna[®] 5 µm C18 (150 mm x 21,2 mm). Uma solução de 20 mg/mL de F6SSPF em etanol/água miliQ 1:1 foi preparada para as injeções. A separação ocorreu em um sistema isocrático de 17% de acetonitrila com 0,1% de ácido fórmico (Synth, grau analítico) e água com 0,1% de ácido fórmico, vazão de 12 ml.min⁻¹, volume de injeção de 1,5 mL, foram feitas 4 injeções no total. A separação foi realizada em um cromatógrafo Shimadzu VP com sistema preparativo equipado com duas bombas LC-8A, detector UV/Vis SPD-10A, controlador SCL-10VP, sistema de injeção SIL-AF10, degaseificador DGU-14A. As bandas cromatográficas foram coletadas repetidamente e seguida as frações foram secas em rotaevaporador para eliminação da acetonitrila, congeladas com nitrogênio líquido e secas em liofilizador (Christ) para

eliminação da água. Todos os solventes utilizados foram grau HPLC: etanol HPLC (Supelco, Merck), acetonitrila HPLC (J. T. Baker). A água ultrapura foi obtida utilizando um sistema de purificação *Millipore* (Merck).

3.3.8 Fracionamento das folhas e frutos da *Senna cearensis*

As amostras do material coletado de *Senna cearensis* (folhas e frutos) foram secas, trituradas e extraídas por 7 dias com etanol, o material foi então filtrado e concentrado em rotaevaporador. O procedimento do fracionamento foi o mesmo para os frutos e folhas. Para o fracionamento, 10 g de extrato foram submetidos à extração em coluna com 100 g de sílica gel (Aldrich, 230-400 mesh) como fase móvel e como eluente um gradiente de solventes (hexano, acetato de etila e etanol), conforme a Tabela 3. As frações foram secas em rotaevaporador, pesadas e submetidas a análises em HPLC.

Tabela 3. Gradiente de solvente no fracionamento dos frutos e folhas da *S. cearensis*

Fração	Solvente	Massa Frutos	Massa Folhas
1.	Hexano	-	-
2.	3% Hex. em Acet. Et.	11,1 mg	0,5 mg
3.	5% Hex. em Acet. Et.	-	-
4.	10% Hex. em Acet. Et.	37 mg	37,3 mg
5.	20% Hex. em Acet. Et.	63,1 mg	510,5 mg
6.	40% Hex. em Acet. Et.	102,2 mg	1,354 g
7.	60% Hex. em Acet. Et.	-	442,1 mg
8.	Acet. Et.	83 mg	695,6 mg
9.	Acet. Et.: etanol 80:20	662,3mg	1,7065 g
10.	Etanol	731 mg	-

Hex.: hexano; Acet. Et.: Acetato de etila. Fonte: elaborado pelo autor.

3.3.9 Criação das redes moleculares para estudo químico dos extratos das folhas e frutos de *Senna cearensis*

Para criação da rede molecular foram usados os dados obtidos por LC-ESI-MS/MS no modo negativo para os extratos de ambas as partes (folhas e frutos). Os dados obtidos no formato RAW. foram convertidos em mz.mL com o software MSConvert. Uma

rede molecular foi criada usando o fluxo de trabalho online (<https://ccms-ucsd.github.io/GNPSDocumentation/>) no site do GNPS (<http://gnps.ucsd.edu>). Os dados foram filtrados removendo todos os íons do fragmento MS/MS dentro de +/- 17 Da do precursor m/z. Os espectros de MS/MS foram filtrados por janela, escolhendo apenas os 6 principais íons de fragmento na janela de +/- 50 Da em todo o espectro. A tolerância da massa do íon precursor foi ajustada para 2,0 Da e uma tolerância do íon do fragmento MS/MS de 0,5 Da. Uma rede foi então criada onde as bordas foram filtradas para ter uma pontuação de cosseno acima de 0,8 e mais de 7 picos correspondentes. Além disso, as arestas entre dois nós foram mantidas na rede somente se cada um dos nós apareceu nos respectivos 10 principais nós mais semelhantes. O tamanho máximo de uma família molecular foi definido como 100 e as arestas de menor pontuação foram removidas das famílias moleculares até que o tamanho da família molecular estivesse abaixo desse limite. Os espectros na rede foram então pesquisados nas bibliotecas espectrais do GNPS (*Global Natural Products Social Molecular Networking*). Os espectros da biblioteca foram filtrados da mesma maneira que os dados de entrada. Todas as correspondências mantidas entre espectros de rede e espectros de biblioteca deveriam ter uma pontuação acima de 0,7 e pelo menos 6 picos correspondentes (WANG *et al.* 2016).

3.3.10 Ensaio de citotoxicidade *in vitro*

Células: As linhagens tumorais utilizadas, SNB-19 (Astrocitoma), HCT-116 (Carcinoma de cólon - humano) e PC3 (Carcinoma de próstata), foram cedidas pelo Instituto Nacional do Câncer (EUA), tendo sido cultivadas em meio RPMI 1640, suplementados com 10% de soro fetal bovino e 1% de antibióticos, mantidas em estufa a 37 °C e atmosfera contendo 5% de CO₂. As amostras diluídas em DMSO (dimetilsulfóxido) puro em concentração de 100 µg/mL para as frações e 10 µg/mL para substâncias puras. Análise de citotoxicidade foi realizada pelo método do MTT descrita primeiramente por Mosman (1983), tendo a capacidade de analisar a viabilidade e o estado metabólico da célula. É uma análise colorimétrica baseada na conversão do sal 3-(4,5-dimetil-2-tiazol) -2,5-difenil-2-H-brometo de tetrazolium (MTT) em azul de formazan, a partir de enzimas mitocondriais presentes somente nas células metabolicamente ativas. O estudo citotóxico pelo método do MTT permite definir facilmente a citotoxicidade, mas não o mecanismo de ação (BERRIDGE *et al.*, 1996).

As células foram plaqueadas nas concentrações de 7×10^4 céls/mL (HCT-116), 1×10^5 céls/mL (SNB19 e PC3), para aplicação das amostras em concentração única de, 100 $\mu\text{g/mL}$ (para as frações) e 10 $\mu\text{g/mL}$ (substâncias puras), em triplicata. As placas foram incubadas por 72 horas em estufa a 5% de CO_2 a 37 °C. Ao término deste, as placas foram centrifugadas e o sobrenadante foi removido. Em seguida, foram adicionados 100 μL da solução de MTT (sal de tetrazolium), e as placas foram incubadas por 3h. A absorbância foi lida após dissolução do precipitado com 100 μL de DMSO puro em espectrofotômetro de placa, no comprimento de onda de 595 nm.

Para os ensaios de IC_{50} , após a diluição das amostras SCFO e SCFR em soluções de estoques já citadas, a concentração máxima testada foi 250 $\mu\text{g/ml}$ para SCFO e concentração máxima de 100 $\mu\text{g/ml}$ para SCFR. A partir dessas soluções, realizou-se diluições seriadas, para avaliação da concentração inibitória média (IC 50%). Os experimentos foram analisados segundo a média \pm desvio padrão da média (DPM) da porcentagem de inibição do crescimento celular usando o programa *GraphPad Prism* versão 8.01.

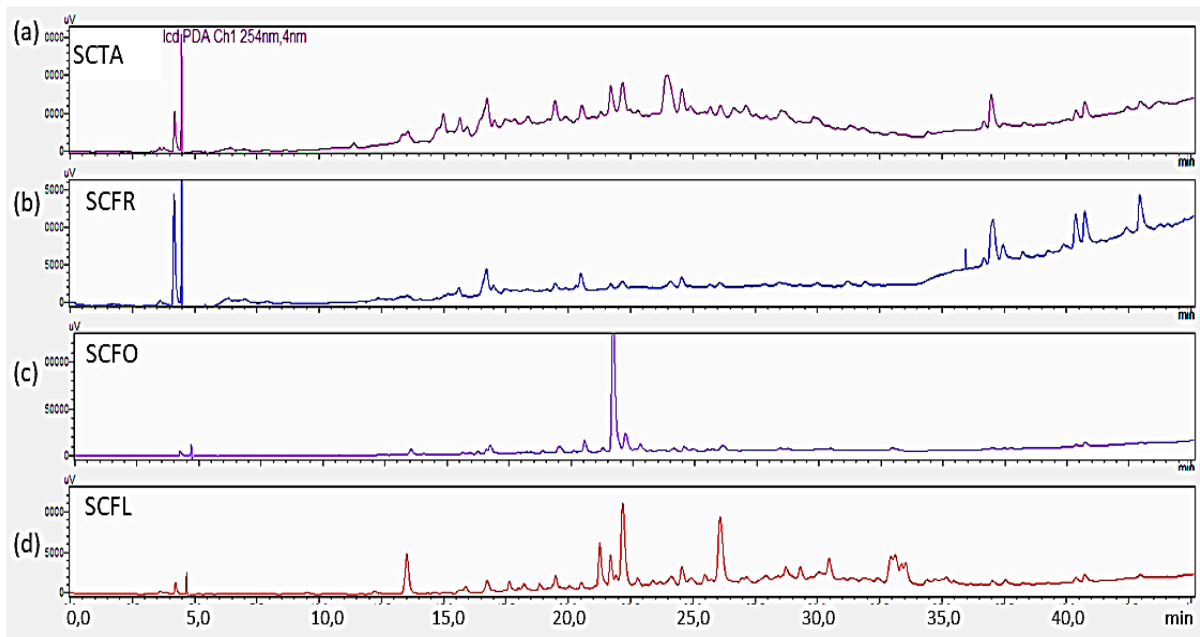
3.4 Resultados e Discussão

3.4.1 Desreplicação dos extratos das espécies *Senna cearensis* e *Senna pendula*

A identificação dos metabólitos secundários no extrato etanólico das folhas da *Senna pendula* e dos frutos, folhas, talos e flores da *Senna cearensis* foi feita com base na interpretação dos tempos de retenção, perfil de fragmentação dos espectros de massa positivo e negativo, absorção no UV e comparação desses dados com a literatura. Por serem do mesmo gênero, muitos dos compostos identificados estão presentes em ambas as espécies. Nas Figuras 3 e 7 estão os cromatogramas HPLC-DAD dos extratos e na Figura 4, o cromatograma LC-MS. As medidas foram feitas nas mesmas condições para ambas as análises. Na Tabela 4 encontram-se as notações dos compostos e em quais extratos eles foram identificados. Os extratos possuem uma composição rica em flavonoides livres, flavonoides glicosilados, procianidinas e proantocianidinas; além desses compostos fenólicos, foram identificados açúcares, ácidos e um terpeno. Os flavonoides são uma classe de compostos comum em extratos de *Senna* e estão relacionados a atividade antioxidante das plantas, possuem atividade quimiopreventiva reconhecida, antibacteriana, antiviral e muitas outras que têm sido estudadas ao longo dos anos de estudos de produtos naturais (DRETCANU *et al.*, 2022).

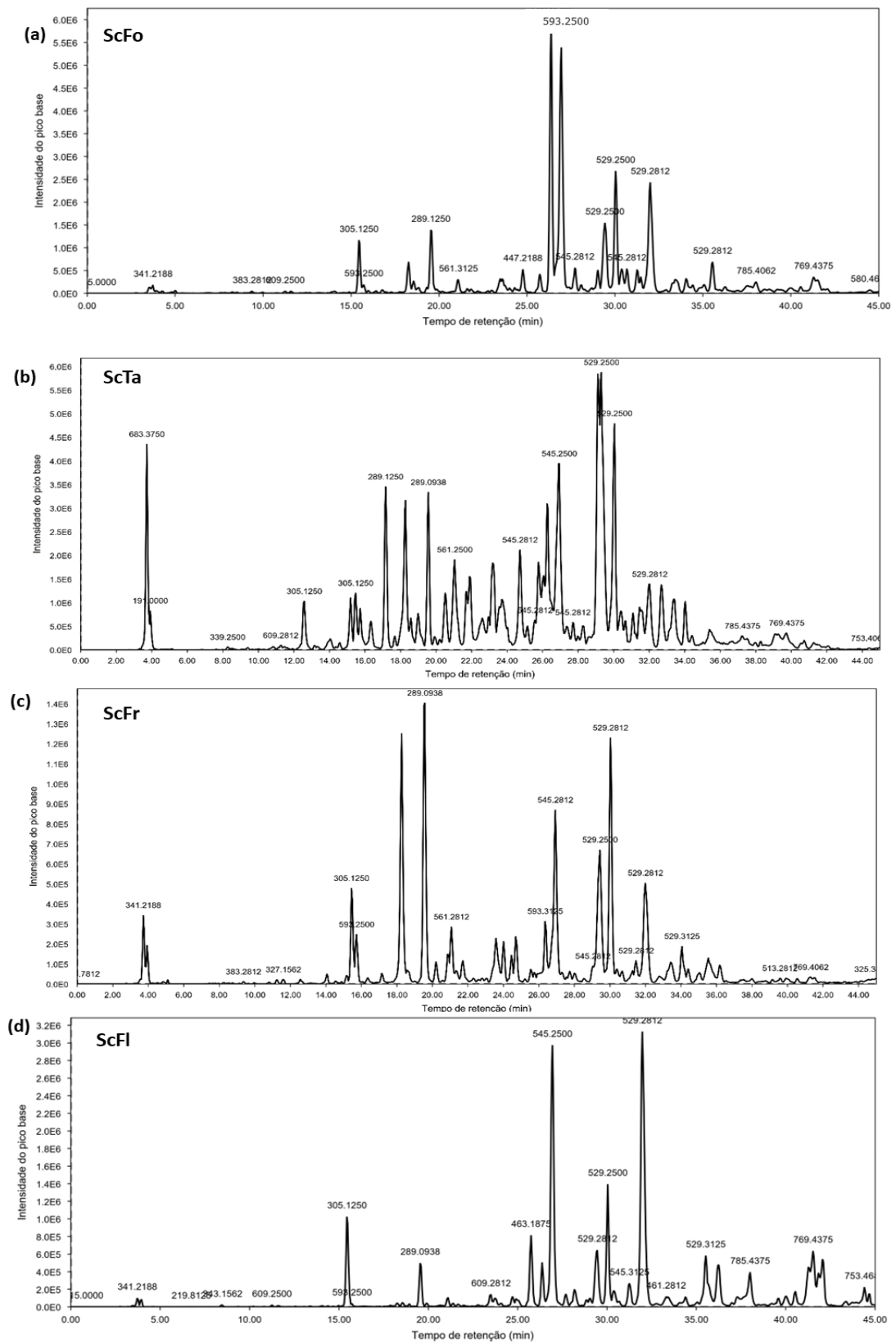
Para todos os extratos, o primeiro composto identificado é a epigallocatequina com identificação do pico m/z 305,12 $[M-H]^-$ no tempo de retenção de 15,44 min, respectivamente com fragmentos m/z 179 $[M-C_6H_6O_3]^-$ e m/z 219 $[M-C_4H_6O_2]^-$ característico das catequinas, confirmando a identidade do composto (CAMPOS *et al.*, 2016). Para os extratos de *S. cearensis* e fração 6 da *S. pendula* também foi identificada a epicatequina com o fragmento m/z 289 $[M-H]^-$ e m/z 179 $[M-C_6H_6O_3]^-$, em 19,59 min. As procianidinas B1 e B2 foram identificadas apenas para os extratos da *S. cearensis* em 18,24 e 18,55 min, com o pico m/z 577 $[M-H]^-$, e os fragmentos MS^2 no modo negativo m/z 289 e m/z 425 característicos da fragmentação das procianidinas (GU *et al.*, 2003). A rutina foi identificada nos frutos e flores da *S. cearensis* e folhas da *S. pendula* no tempo de retenção de 23,51 min e pico do íon molecular da rutina $[M-H]^-$ m/z 609. A rutina também foi identificada para o extrato metanólico das flores da *S. cearensis* por Franca, Cavalheiro e Silva (2021) e nas flores da *S. pendula* por Monteiro (2018).

Figura 3. Cromatograma HPLC-DAD dos extratos etanólicos da *S. cearensis*: (a) talos, (b) frutos, (c) folhas (d) flores



Fonte: Elaborado pelo autor. SCFR: Extrato etanólico *Senna cearensis* frutos; SCFO: Extrato etanólico *Senna cearensis* folhas; SCTA: Extrato etanólico *Senna cearensis* talos; SCFL: Extrato etanólico *Senna cearensis* flores.

Figura 4. Cromatograma HPLC-ESI-MS dos extratos etanólicos da *S. cearensis*: (a) folhas, (b) talos, (c) frutos (d) flores



Fonte: Elaborado pelo autor. SCFR: Extrato etanólico *Senna cearensis* frutos; SCFO: Extrato etanólico *Senna cearensis* folhas; SCTA: Extrato etanólico *Senna cearensis* talos; SCFL: Extrato etanólico *Senna cearensis* flores.

A partir do tempo de retenção de 29 minutos, os picos de maior intensidade são de dímeros e trímeros de flavonoides. Para as espécies de *Senna* estudadas nesse trabalho, os bi e triflavonoides são: cassiaflavan(cat)-epicatequina, cassiaflavan-cassiaflavan-epigallocatequina e guibourtinidol-(cat)epicatequina. Em todos os extratos analisados foram identificadas os dímeros e trímeros de flavonoides. A presença desses compostos no cromatograma na forma de vários picos agregados em sequência é característica das plantas do gênero, como para *Senna velutina* (CAMPOS *et al.* 2016), *Senna macranthera var pudibunda* (MONTEIRO *et al.*, 2018) e *Senna sigueana* (SOBEH *et al.*, 2017). A absorção no UV em 280 nm dos picos corrobora com a identificação dos bi e triflavonoides. Campos e colaboradores (2016) ressaltam a presença desses flavonoides como marcadores do gênero.

Os bi e triflavonoides são formados pela combinação de monoflavonoides flavan-3-ol, que são as subunidades desses compostos. As subunidades mais comuns são: catequina, epigallocatequina, afzelequina e epicatequina, pelo menos uma subunidade de um desses compostos está presente em muitos dímeros e trímeros de flavonoides. Além da vasta quantidade de subunidades que podem compor os oligômeros, as subunidades ainda podem assumir diferentes modos conexão entre si, possibilitando a formação de uma grande variedade de bi e triflavonoides em plantas (CALLIEMEN E COLLIN, 2008; HE; YANG; HUANG, 2021). Em uma revisão de literatura, He, Yang e Huang (2021) descreveram 571 biflavonoides de origem natural. Os biflavonoides estão presentes em muitas plantas de uso medicinal e possuem propriedades farmacológicas, tais como: anti-inflamatórias, antioxidantes, antivirais e analgésicas (GONTIJO; SANTOS; VIEGAS, 2017).

A proantocianidina guibourtinidol-(cat)epicatequina foi identificada no tempo de retenção 26,91 min pelo pico base m/z 545 $[M-H]^-$ e o fragmento m/z 435 ($[M-H-125]^-$) que é formado após a fissão heterocíclica do anel A de um dos flavonoides do dímero e m/z 271 resultante da clivagem da conexão interflavan (GU *et al.*, 2003); o Guibourtinidol-(Cat)Epicatequina também é encontrado na *Senna velutina* (CAMPOS *et al.*, 2016 e, *Senna macranthera var pudibunda* (MAIA *et al.*, 2019). A cassiaflavan(cat)-epicatequina foi observada em mais de um tempo de retenção em todos os cromatogramas, com picos de alta intensidade e pico base m/z 529 $[M-H]^-$ em 29,40 min e também em 30,2 e 31,47 min (Figura 4); a identificação foi confirmada pela presença dos fragmentos m/z 289 $[M-H-240]^-$ e m/z 419 $[M-H-110]^-$ proveniente da fissão heterocíclica do anel (SOBEH, 2017).

Dois triflavonoides foram identificados nos cromatogramas, o (ent)cassiaflavan-(ent)cassiaflavan-epigallocatequina, detectado em 38 minutos pelo pico base m/z 785 $[M-H]^-$ e

fragmentos m/z 545 (M-H-240) e 305 m/z [M-H-240-240]⁻; o segundo é o (ent)cassiaflavan-(ent)cassiaflavan-(epi)catequina, com pico base m/z 769 [M-H]⁻ e fragmentos MS² m/z 529 [M-H-240] e m/z 289 [M-H-240-240]⁻ (SOBEH *et al*, 2017; MOURA *et al* 2022). Esse composto foi identificado em mais de um tempo de retenção, como pode ser observado na Tabela 4. A representação estrutural dos compostos identificados estão dispostas nas Figuras 5 e 6.

Tabela 4. Compostos identificados por LC-MS nos extratos dos frutos, flores, folhas e talos da *Senna cearensis* e nas folhas da *Senna pendula*

ID	TR(min)	Composto	MM (g.mol ⁻¹)	Fórmula molecular	[M-H] ⁻ (m/z)	2[M-H] ⁻ (m/z)	[M-H] ⁺ (m/z)	Literatura	Espécies de <i>Senna</i>
1.	3,88	Ácido quínico	192,17	C ₇ H ₁₂ O ₆	191,00	-	-	Fraige <i>et al.</i> (2017)	SPF, SCTA, SCFL, SCFR
2.	3,28	Sacarose	342,30	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	341,22	683,37	-	CAMPOS <i>et al.</i> (2016)	SCFO, SCFR, SCFL
3.	15,44	(-) Epigallocatequina	306,27	C ₁₅ H ₁₄ O ₇	305,12	611,22	307,0312	CAMPOS <i>et al.</i> (2016); YUZUAK; BALLINGTON; XIE (2018)	SCFL, SCTA, SCFO, SCFR, SPF, 6SPF
4.	17,11	Catequina	290,27	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	289,06	-	-	CAMPOS <i>et al.</i> (2016); MAIA <i>et al.</i> (2019)	6SPF
5.	18,24	Procianidina B1	578,50	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	577,28	-	579,1562	CAMPOS <i>et al.</i> (2016); MAIA <i>et al.</i> (2019)	SCFL, SCTA, SCFO, SCFR
6.	18,55	Procianidina B2	578,50	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	577,50	-	579,1562	CAMPOS <i>et al.</i> (2016); MAIA <i>et al.</i> (2019)	SCFL, SCTA, SCFO, SCFR
7.	19,53	Epicatequina	290,27	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	289,00	579,12	290,9688	CAMPOS <i>et al.</i> (2016)	SPF, 6SPF, SCFL, SCTA, SCFO, SCFR

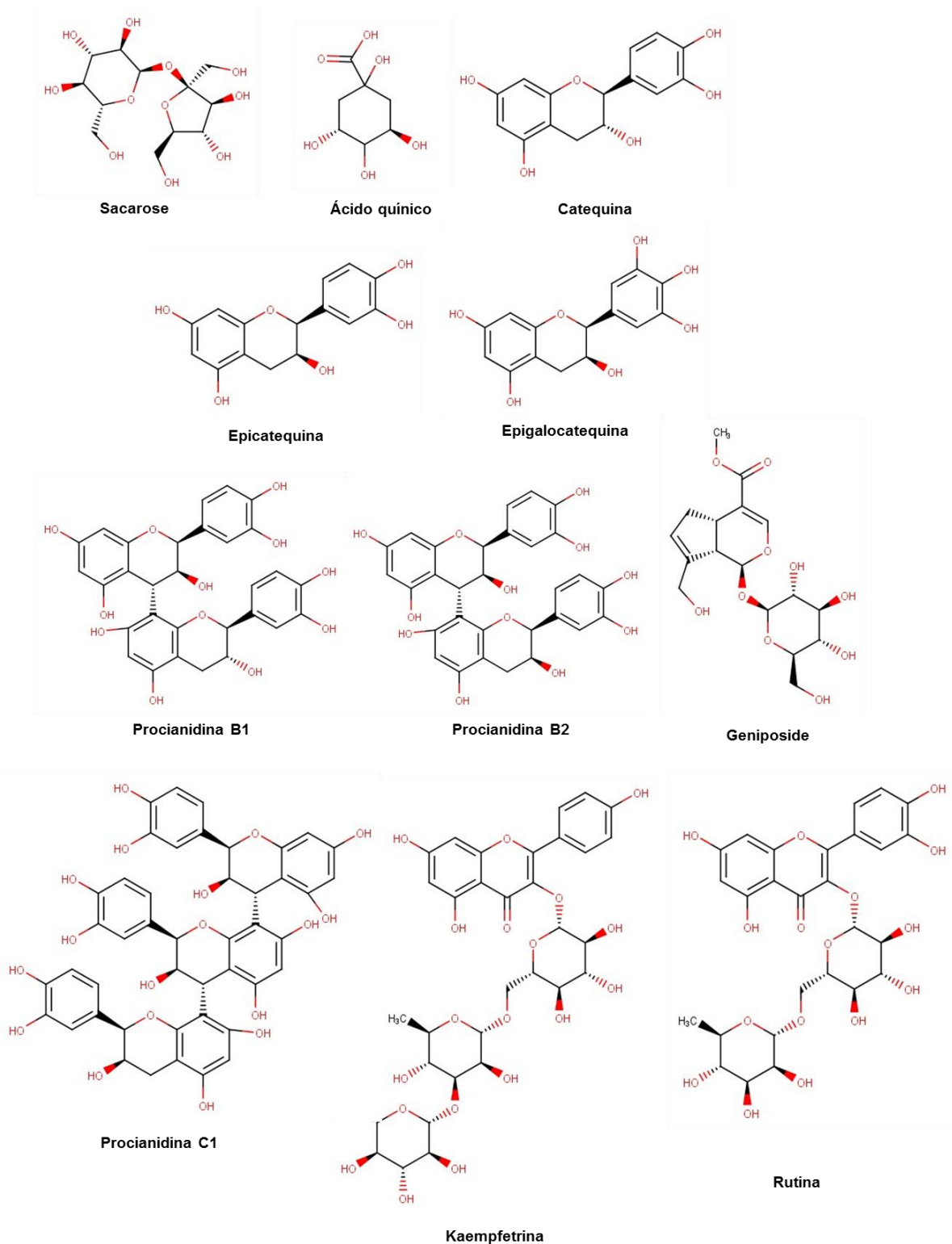
ID	TR(min)	Composto	MM (g.mol ⁻¹)	Fórmula molecular	[M-H] ⁻ (m/z)	2[M-H] ⁻ (m/z)	[M-H] ⁺ (m/z)	Literatura	Espécies de <i>Senna</i>
8.	20,20	Procianidina C1	866,8	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₈	865,47	-	867,25	TAEYE; KANKOLONGO; COLLIN (2017)	SCFR
9.	21.61	Geniposide	388,37	C ₁₇ H ₂₄ O ₁₀	433,31 [M-FA-H]	-	434,62	WANG; HUANG; TSAI (2007)	SPF
10.	22.61	Caempfetrina	756.12	C ₃₃ H ₄₀ O ₂₀	801 .81 [M-FA-H]	-	757,56	SCHARBERT; HOLZMANN; HOFMANN (2004)	SPF
11.	23,51	Rutina	610,50	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	609,22	-	611,06	MAIA <i>et al.</i> (2019)	SPF, SCFR, SCFL
12.	25,72	Quercetina- <i>O</i> - glicosídeo	464,40	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	463,16	926,97	465,06	MAIA <i>et al.</i> (2019)	SPF, 6SPF, SCFR, SCFL
13.	26,39	Luteolin-7- <i>O</i> -β- rutinosídeo *	594,50	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	593,22	-	595,09	WANG <i>et al.</i> (2003)	6SPF, SPF, SCFR
14.	26,91	Guibourtinidol- (Cat)Epicatequina	546,15	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₀	545,22	1092,31	547,09	MAIA <i>et al.</i> (2019)	SPF, 6SPF, SCFL, SCTA, SCFO, SCFR
15.	29,40	Cassiaflavan(cat)- epicatequina	530,15	C ₃₀ H ₂₆ O ₉	529,19	1060,37	531,12	MOURA <i>et al.</i> (2022)	SPF, 6SPF, SCFL, SCTA, SCFO, SCFR
16.	30,02	Cassiaflavan(cat)- epicatequina	530,15	C ₃₀ H ₂₆ O ₉	529,22	1058,84	531,03	MOURA <i>et al.</i> (2022)	SCFL, SCTA, SCFO, SCFR

ID	TR(min)	Composto	MM (g.mol ⁻¹)	Fórmula molecular	[M-H] ⁻ (m/z)	2[M-H] ⁻ (m/z)	[M-H] ⁺ (m/z)	Literatura	Espécies de <i>Senna</i>
17.	31,47	Cassiaflavan(4β→8)-epicatequina *	530,16	C ₃₀ H ₂₆ O ₉	529,28	-	531,09	MOURA <i>et al.</i> (2022)	SCFL, SCTA, SCFO, SCFR
18.	32,78	Cassiaflavan-epicatequina	514,16	C ₃₀ H ₂₆ O ₈	513,28	1027,34	515,12	CAMPOS <i>et al.</i> (2016)	SCFL, SCTA, SCFO, SCFR
19.	34,73	Luteolina	286,24	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	285,03	571,09	286,27	CAMPOS <i>et al.</i> (2016)	SPF, 6SPF
20.	38,00	(ent)Cassiaflavan-(ent)Cassiaflavan-epigalocatequina	786,44	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₃	785,41	-	-	CAMPOS <i>et al.</i> (2016)	SPF, SCFL, SCTA, SCFO, SCFR
21.	38,30	Ácido (10E,15E)-9,12,13-trihidróxiocetadeca-10,15-dienoico	328,22	C ₁₈ H ₃₂ O ₅	327,34	-	-	Shah <i>et al.</i> (2022)	SCTA
22.	38,58	(ent)Cassiaflavan-(ent)Cassiaflavan-(epi)catequina	770,44	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₂	769,34	-	-	CAMPOS <i>et al.</i> (2016)	SPF, SCFL, SCTA, SCFO, SCFR
23.	40,03	(ent)Cassiaflavan-(ent)Cassiaflavan-(epi)catequina	770,44	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₂	769,34	-	-	CAMPOS <i>et al.</i> (2016)	SPF, 6SPF, SCFL, SCTA, SCFO, SCFR
24.	39,36	(ent)Cassiaflavan-(ent)Cassiaflavan-(epi)catequina	770,44	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₂	769,34	-	-	CAMPOS <i>et al.</i> (2016)	SPF, SCFL, SCFO, SCFR
25.	40,01	(ent)Cassiaflavan-(ent)Cassiaflavan-(epi)catequina	770,44	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₂	769,37	-	-	CAMPOS <i>et al.</i> (2016)	SPF, SCFL, SCFO, SCFR

ID	TR(min)	Composto	MM (g.mol ⁻¹)	Fórmula molecular	[M-H] ⁻ (m/z)	2[M-H] ⁻ (m/z)	[M-H] ⁺ (m/z)	Literatura	Espécies de <i>Senna</i>
26.	40,52	(ent)Cassiaflavan- (ent)Cassiaflavan- (epi)catequina	770,44	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₂	769,37	-	-	CAMPOS <i>et al.</i> (2016)	SPF, SCFL, SCTA, SCFO, SCFR
27.	41,27	(ent)Cassiaflavan- (ent)Cassiaflavan- (epi)catequina	770,44	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₂	769,41	-	-	CAMPOS <i>et al.</i> (2016)	SPF, SCFL, SCTA, SCFO, SCFR
28.	41,53	(ent)Cassiaflavan- (ent)Cassiaflavan- (epi)catequina	770,44	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₂	769,41	-	-	CAMPOS <i>et al.</i> (2016)	SPF, SCFL, SCTA, SCFO, SCFR

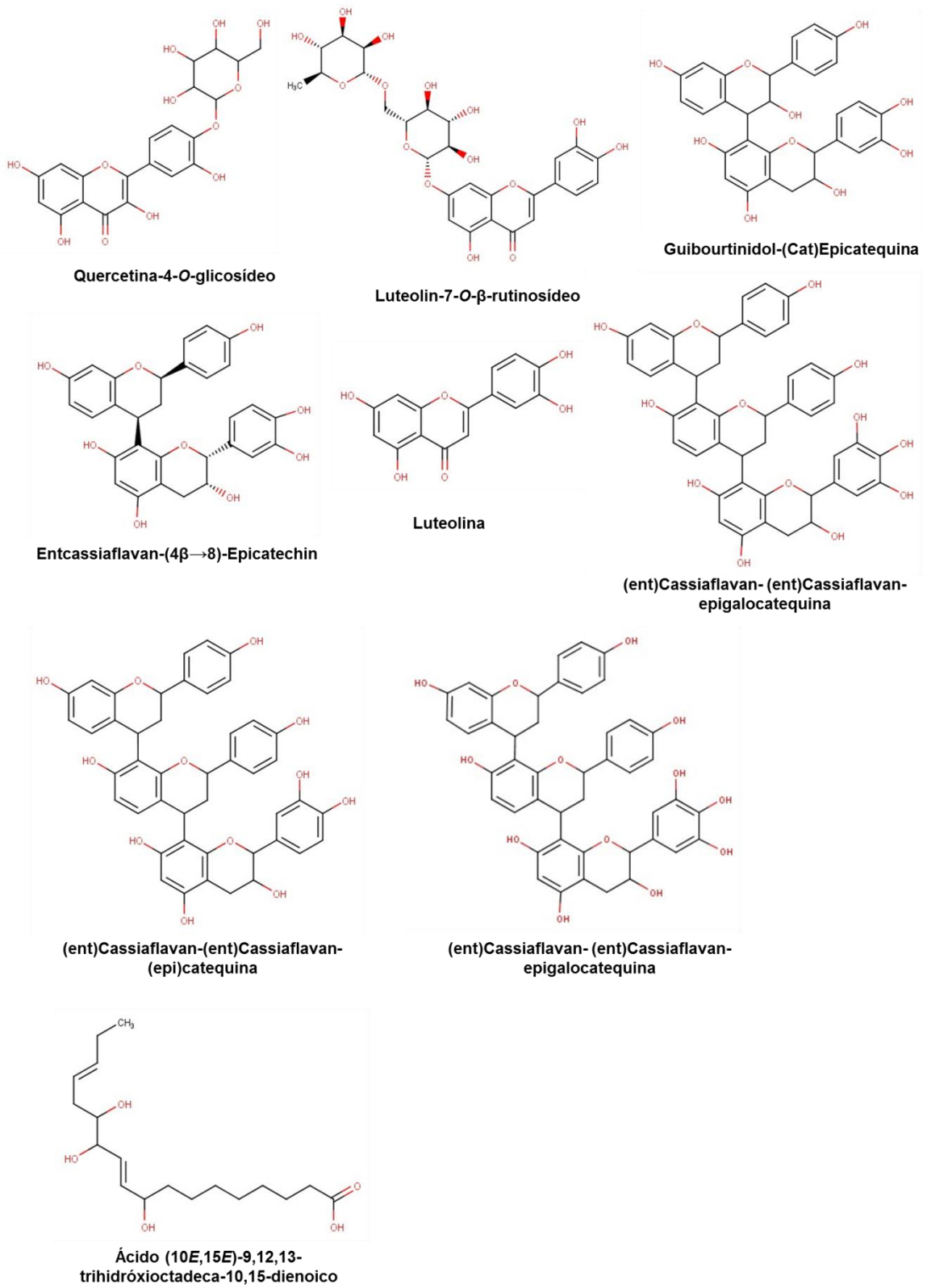
Fonte: Elaborado pelo autor. EESPF: Extrato etanólico *Senna pendula* folhas; 6SPF: Fração 6 da separação em coluna Sephadex; SCFR: *Senna cearensis* frutos; SCFO: *Senna cearensis* folhas; SCTA: *Senna cearensis* talos; SCFL: *Senna cearensis* flores. *identificação confirmada por NMR ¹H e ¹³C.

Figura 5. Representação estrutural dos compostos identificados nos extratos de *Senna*



Fonte: Elaborado pelo autor (MarvinSkech®).

Figura 6. Representação estrutural dos compostos identificados nos extratos de *Senna*

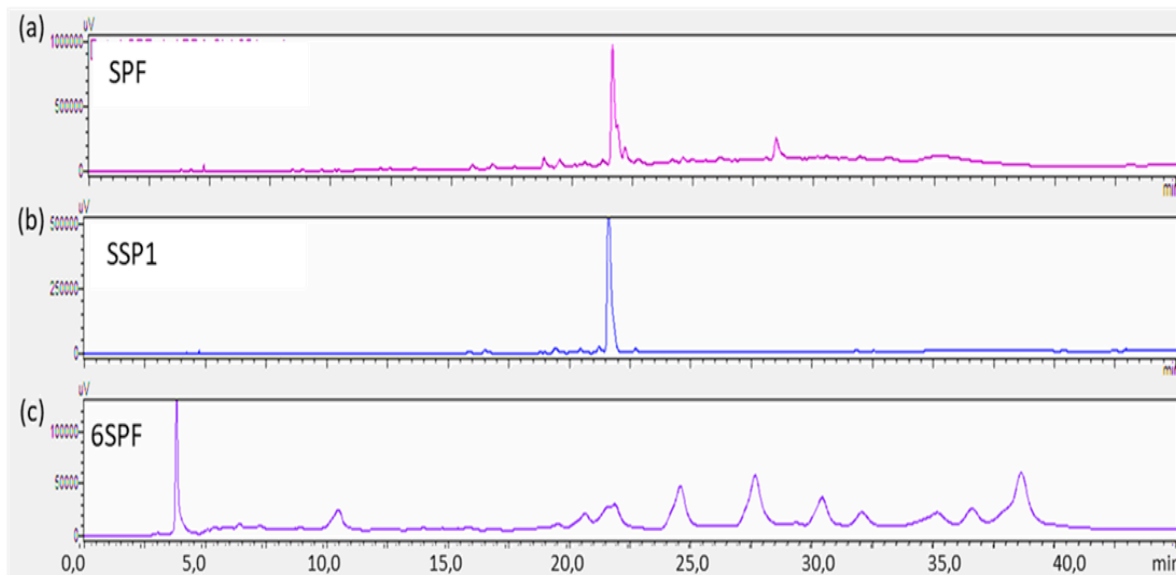


Fonte: Elaborado pelo autor (MarvinSkechth®).

3.4.2 Isolamento de flavonoides das folhas do extrato etanólico da *Senna pendula*

O extrato etanólico das folhas da *S. pendula* foi fracionado inicialmente por cromatografia em coluna Sephadex utilizando metanol como fase móvel, foram obtidas 12 frações. As frações 4 (92,9 mg) e 5 (179,4 mg), após análise por cromatografia em camada delgada e HPLC-DAD, mostraram ter um perfil cromatográfico de composto isolado, contendo somente um pico de alta intensidade, ainda que com algumas impurezas (Figura 8); esse composto foi chamado de SSP1. As duas frações foram submetidas a análise de LC-MS, ^1H e ^{13}C RMN, por meio dessas técnicas foi comprovado que as duas frações correspondem ao mesmo composto. A fração 6 foi escolhida para uma posterior separação em HPLC-preparativo devido a boa separação dos picos, possuir muitos componentes e pela quantidade de massa disponível (226,2 mg). A composição da fração 6 encontra-se na Tabela 4, identificada como 6SPF. Na Figura 7 estão dispostos os cromatogramas do extrato bruto, SPF, do composto SSP1 e da fração 6, 6SPF.

Figura 7. Cromatograma HPLC-DAD do (a) SPF (b) SSP1 e (c) 6SPF



Fonte: Elaborado pelo autor. SPF: *Senna pendula* Folhas; SSP1: composto isolado 1; 6SPF: fração 6 da *Senna pendula* Folhas

3.4.2.1 Elucidação estrutural do composto SSP1

O composto SSP1 foi isolado como um sólido marrom. O espectro UV do SSP1 mostrou três picos máximos de absorção em 248, 268 e 338 nm, semelhante ao observado na literatura para flavonoides glicosilados (TALHAOUI *et al.*, 2014). O espectro de ^1H RMN 600 MHz mostrou picos na região dos aromáticos de δ_{H} 7.5 a 6.0 ppm e diversos picos na região de deslocamento químico de 4,0 a 3,0 ppm, característicos de açúcares, sugerindo tratar-se de um flavonoide glicosilado. A presença de um duplo duplete em δ_{H} 7,52 e um duplete em δ_{H} 7,31 comprovam a presença de um anel aromático ortosubstituído, no anel B do flavonoide, sugerindo que se trata do flavonoide luteolina. Os dupletos em δ_{H} 6.48 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H) e δ_{H} 6.22 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H) estão associados aos dois hidrogênios do anel aromático A do flavonoide. Os valores de J para todos os multipletos e correspondência dos picos estão na Tabela 5.

No espectro RMN ^{13}C Deptq do composto, os picos com deslocamento de 180 a 110 ppm são de carbonos dos anéis aromáticos A e B do flavonoide. O pico em 182,39 ppm é atribuído ao carbono C-4 da carbonila presente na estrutura do flavonoide. Os sinais de picos negativos de de 165 a 125 ppm são de carbonos não hidrogenados presentes nos anéis A e B. O pico negativo em δ_{C} 103,84 é devido ao carbono C-2 em dupla ligação no anel C, ligado ao anel B. O pico em δ_{C} 66,56 é atribuído ao único carbono CH_2 na estrutura, presente na ligação entre os anéis de açúcar. O pico em δ_{C} 16,55 é referente ao único carbono CH_3 da estrutura presente no rutinosídeo. Os picos de 100 a 68 ppm são associados ao rutinosídeo ligado à estrutura do flavonoide. O espectro de LC-ESI-MS dos compostos isolados estão na Figura 11 e os espectros de RMN no anexo A.

A comparação dos dados de RMN com a literatura confirma que o sólido SSP1 é o flavonoide luteolina-7-*O*- β -rutinosídeo (Figura 9a). O flavonoide luteolina-7-*O*- β -rutinosídeo é encontrado em muitas plantas, possui efeito antioxidante e atividade na prevenção e tratamento de diabetes tipo 2 (KIM *et al.*, 2000; SUBASH-BABU *et al.*, 2023). A fragmentação do espectro de massas do composto corrobora com a identidade do composto. O espectro dos compostos tem um pico base no modo negativo m/z 593,15 $[\text{M-H}]^-$, sendo este o pico do íon molecular. O fragmento m/z 285,00 $[\text{M-H}-308]$ é resultado da perda do açúcar rutinosídeo (TALHAOUI *et al.*, 2014).

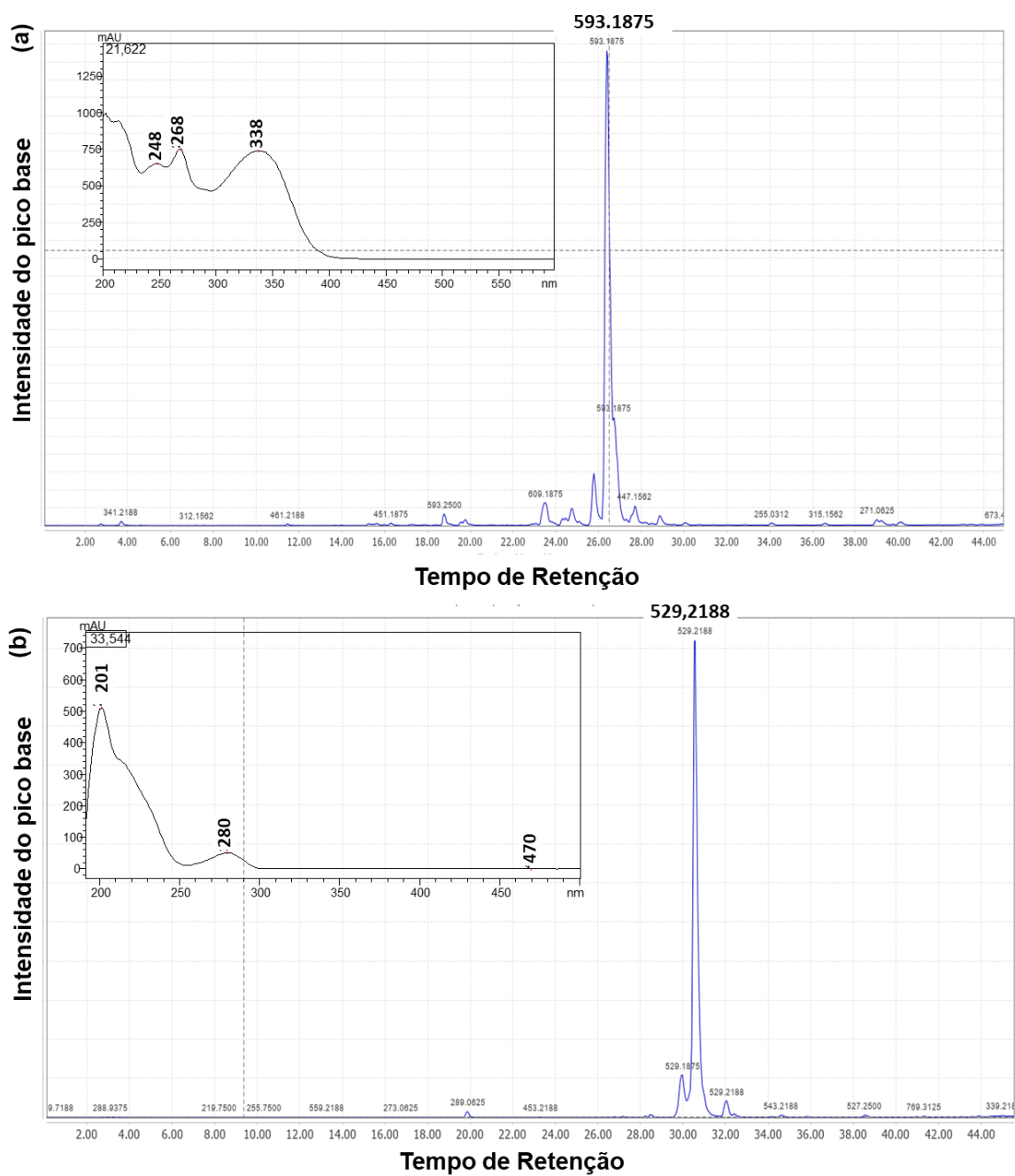
Tabela 5. Comparação dos valores de deslocamento químico de RMN ^{13}C (150 MHz) e RMN ^1H (600 MHz) composto SSP1 (solvente CD_3OD) com a literatura (WANG *et al.*, 2003)

$\delta_{\text{H}} \text{SSP1}$	δ_{H} Luteolina-7-O- β -rutinosídeo $J(\text{Hz})$	$\delta_{\text{C}} \text{SSP1}$	δ_{C} Luteolina-7-O- β -rutinosídeo $J(\text{Hz})$
7.50 (dd, $J = 8.6, 2.3 \text{ Hz}$, 1H)	7.44 (1H, dd, $J = 8.0, 2.0 \text{ Hz}$, H-6')	182,39	δ 181.9 (s, C-4),
7.47 (d, $J = 2.2 \text{ Hz}$, 1H)	7.41 (1H, d, $J = 2.0 \text{ Hz}$, H-2')	164,05	164.7 (s, C-2),
6,64 (s, 1H)	6.74 (1H, s, H-3)	161,79	161.2 (s, C-5)
6.48 (d, $J = 2.1 \text{ Hz}$, 1H)	6.73 (1H, d, $J = 2.0 \text{ Hz}$, H-8)	158,07	157.0 (s, C-9)
6.22 (d, $J = 2.1 \text{ Hz}$, 1H)	6.45 (1H, d, $J = 2.0 \text{ Hz}$, H-6)	148,47	150.5 (s, C-4'),
4,75 (d, $J = 1,7 \text{ Hz}$, 1H)	4.53 (1H, br s, ram-1)	125,93	121.0 (s, C-1'),
4.11 – 4.05 (m, 2H)	-	118,43	119.3 (d, C-6'),
3.92 – 3.87 (m, 2H)	Protons do rutinosídeo	116,51	116.0 (d, C-5'),
3.75 (dd, $J = 9.5, 3.4 \text{ Hz}$, 1H),	Protons do rutinosídeo	113,54	113.4 (d, C-2'),
3.68 (d, $J = 3.2 \text{ Hz}$, 2H), 3.67 – 3.61 (m, 2H)	Protons do rutinosídeo	103,69	103.0 (d, C-3),
3.60 – 3.49 (m, 3H)	Protons do rutinosídeo	101.65	100.6 (d, ram-1),
3,41 (td, $J = 9,3, 6,3 \text{ Hz}$, 2H).	Protons do rutinosídeo	100.84 98.99 93.87	99.9 (glc-1), 99.5 (C-6), 94.8 (C-8)
1,24 (d, $J = 6.2 \text{ Hz}$, 2H)	1,07 (3H, d, $J = 6.4 \text{ Hz}$, ram-6)	76,16 75,83 73,39	76.2 (d, glc-3), 75.6 (d, glc-5), 73.1 (d, glc-2)
-	-	72,62	72.0 (d, ram-4),
-	-	71,04	70.7 (d, ram-3), 70.3
-	-	70,80	(ram-2),
-	-	70,20	69.5 (d, glc-4),

δ_H SSP1	δ_H Luteolina-7-O- β -rutinosídeo $J(\text{Hz})$	δ_C SSP1	δ_C Luteolina-7-O- β -rutinosídeo $J(\text{Hz})$
-	-	68,53	68.4 (d, ram-5), 66.0
-	-	66,56	(t, glc-6),
-	-	16,55	17.9 (q, ram-6)

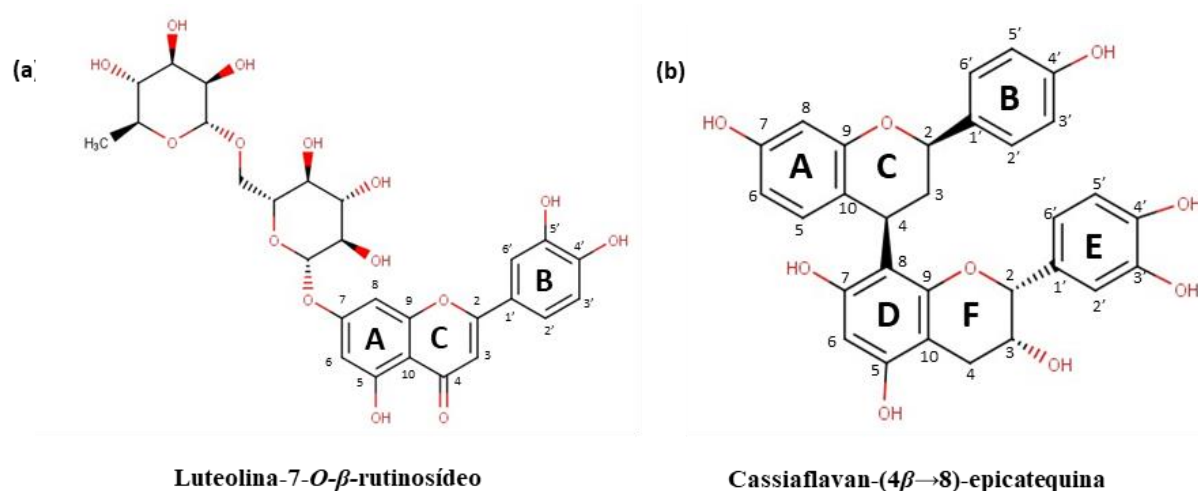
s: singeto, d: dupletto, dd: duplo dupletto, ram: ramnosídeo, glc: glicosídeo. Fonte: Elaborador pelo autor

Figura 8. LC-MS e espectro UV do (a) SSP1 e (b) SSP2



Fonte: Elaborador pelo autor.

Figura 9. (a) Representação estrutural da luteolina-7-*O*- β -rutinosídeo (SSP1) (b) cassiaflavan-(4 β →8)-epicatequina (SSP2)



Fonte: Elaborada pelo autor (MarvinSketch®)

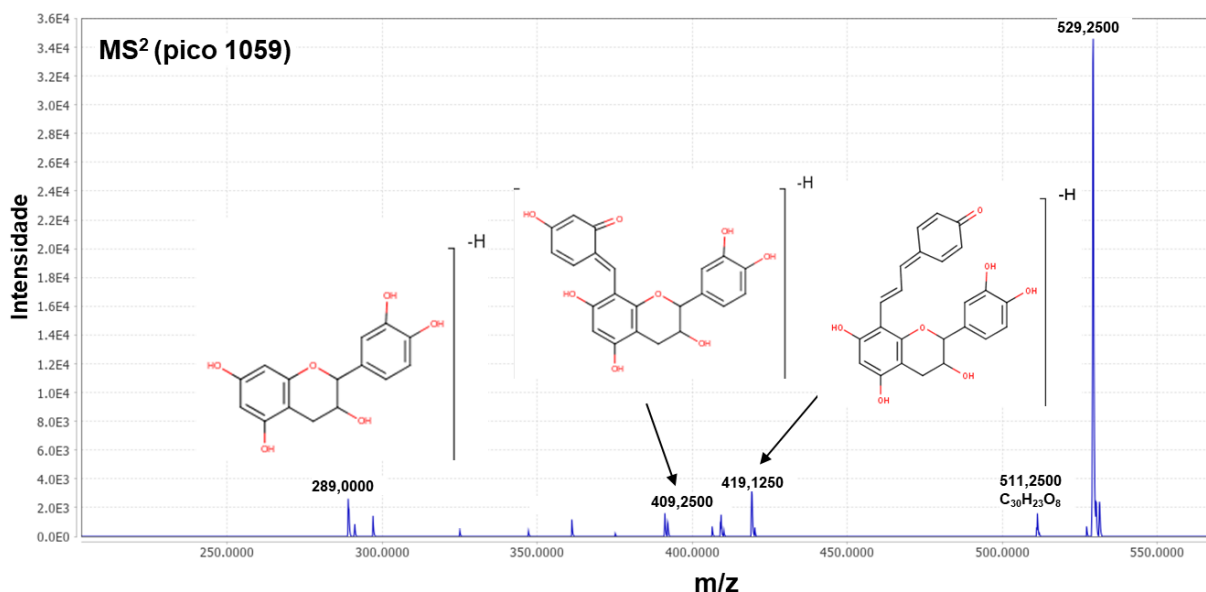
3.4.2.2 Elucidação estrutural do composto SSP2

O sólido SSP2 foi obtido por HPLC-preparativo, e apresenta-se como um sólido amarronzado quando solubilizado em metanol. O espectro de massas obtido por LC-MS (Figura 8) mostrou um pico base de m/z 529,25 $[M-H]^-$ e m/z 1053,31 $2[M-H]^-$ e o HPLC-DAD, um espectro de absorção $UV_{Máx}$ de 280 nm para o compostos SSP2, que indicaram tratar-se de um biflavonoide frequentemente detectado em plantas do gênero *Senna* (CAMPOS *et al.*, 2016), como já discutido na sessão anterior. Os fragmentos observados no espectro MS^2 também corroboraram a confirmação da identidade do composto como uma proantocianidina, que também foi identificada na *Senna cearensis* nesse trabalho, a entcassiflavan-(4 β →8)-epicatequina de massa 530,157 $g \cdot mol^{-1}$. O pico do íon molecular é o m/z 529,22 $[M-H]^-$. No espectro MS^2 , o pico m/z 289,00 é associado à epicatequina após uma quebra quinona metide; o pico m/z 409,25 é resultado de uma fissão Retro Diels Alder e o pico m/z 419,1250, de uma fissão heterocíclica do anel, conforme indicado na Figura 10 (MOURA *et al.*, 2022).

O espectro RMN de hidrogênio (600 MHz) e de carbono Deptq (150 MHz) do sólido SSP2 foi obtido, porém devido à alta diluição do composto, o espectro de carbono e hidrogênio possuem uma baixa resolução, com poucos picos. Os dados obtidos foram comparados com o de Moura e colaboradores (2022), que elucidaram a estrutura da entcassiflavan-(4 β →8)-epicatequina, isolada a partir das folhas da *Dalbergia monetária*, a comparação dos dados encontra-se na Tabela 6. No espectro de Deptq, os dois picos

negativos com deslocamento δ_c 34,40 ppm e 28,03 ppm foram atribuídos aos dois carbonos CH_2 presentes na estrutura no anel F e C, na posição 3 e 4, respectivamente. Os demais 5 picos foram associados aos carbonos CH da estrutura. A Figura com os espectros de RMN encontram-se no anexo B.

Figura 10. Espectro MS^2 do composto SSP2 e respectivos fragmentos dos picos



Fonte: Elaborador pelo autor.

Tabela 6. Comparação dos valores de deslocamento químico de RMN ^{13}C (150 MHz) e RMN ^1H (600 MHz) do sólido SSP2 (DMSO- D_6) com a literatura (MOURA *et al*, 2022)

δ_{H} SSP2	δ_{H} Entcassiflavan-(4 β →8)-Epicatequina	δ_{C} SSP2	δ_{C} Entcassiflavan-(4 β →8)-Epicatequina
7,15 (d, $J = 6,4$ Hz, 4H)	7,056 d (8,6)	126,83	128,62
6,71 (d, $J = 6,5$ Hz, 5H)	6,709 dd (8,4/1,2)	114,60	114,14
6,26 (s, 2H)	6,262 dd (8,4/2,5)	113,60	-
6,21 (s, 1H)	6,311 d (2,5)	102,40	103,97
6,02 (s, 2H)	6,081 s	75,37	79,30
5,41 (s, 1H)	-	34,40 (C4-anel F)	33,05
4,21 (s, 3H)	4,067 ddd (4,6/2,3/1,2)eq	28,03 (C4-anel C)	29,35
2,90 (d, $J = 17,1$ Hz, 2H)	2,846 dd (16,8/4,6) ax;	-	-
2,76 (d, $J = 15,8$ Hz, 2H)	2,757 ddd (16,8/2,3/0,9) eq	-	-

δ_H SSP2	δ_H Entcassiflavan- (4 β →8)-Epicatequina	δ_C SSP2	δ_C Entcassiflavan- (4 β →8)- Epicatequina
1,31 (s, 1H)	1,836 ddd (13,2/5,8/2,0) eq	-	-

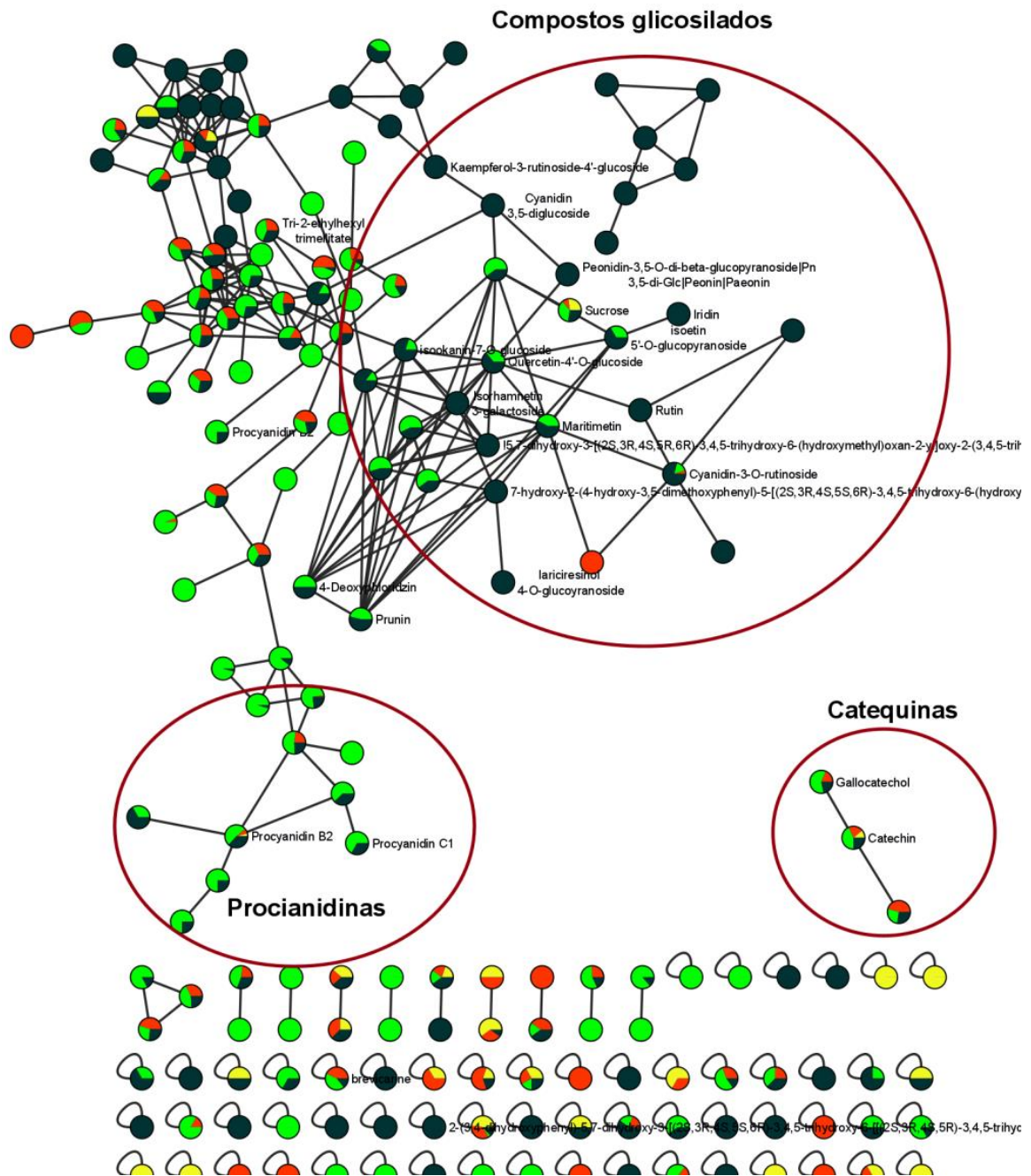
s: singleto, d: dupleteo, dd: duplo dupleteo, ddd: duplo duplo dupleteo, eq: equatorial, ax: axial, ram: ramnosídeo, glc: glicosídeo. Fonte: Elaborado pelo autor.

3.4.3 Fracionamento dos frutos e folhas da *Senna cearensis* e uso de *molecular network* como ferramenta para desrepliação

Com objetivo de analisar a composição química das folhas e frutos da *Senna cearensis* mais detalhadamente visando o isolamento de compostos da planta foi realizado o fracionamento dessas duas partes. A composição química das frações foi determinada a partir da submissão dos dados de LC-ESI-MS/MS na plataforma GNPS para criação de uma rede molecular. Foram identificados flavonoides aglicosilados e glicosilados, ligninas, terpenos e ácidos graxos nas frações, os dados de cada anotação encontram-se nas Tabelas 7 e 8. O *molecular network* criado para as folhas contém 126 nodos e 30 notações de compostos (Figura 11); o dos frutos, 69 nodos e 33 notações (Figura 13). Cada notação foi avaliada com base nos picos compartilhados, *mirror match*, comparação das fragmentações com dados de bancos de dados do Massbank (HORAI *et al*, 2010) e Pubmed (KIM *et al*, 2023). Alguns dos compostos identificados foram descartados devido à qualidade da fragmentação ou natureza sintética. Na Figura 11 encontra-se a rede molecular criada para as frações das folhas da *Senna cearensis* e na Figura 12 alguns dos *clusters* e compostos identificados nas folhas.

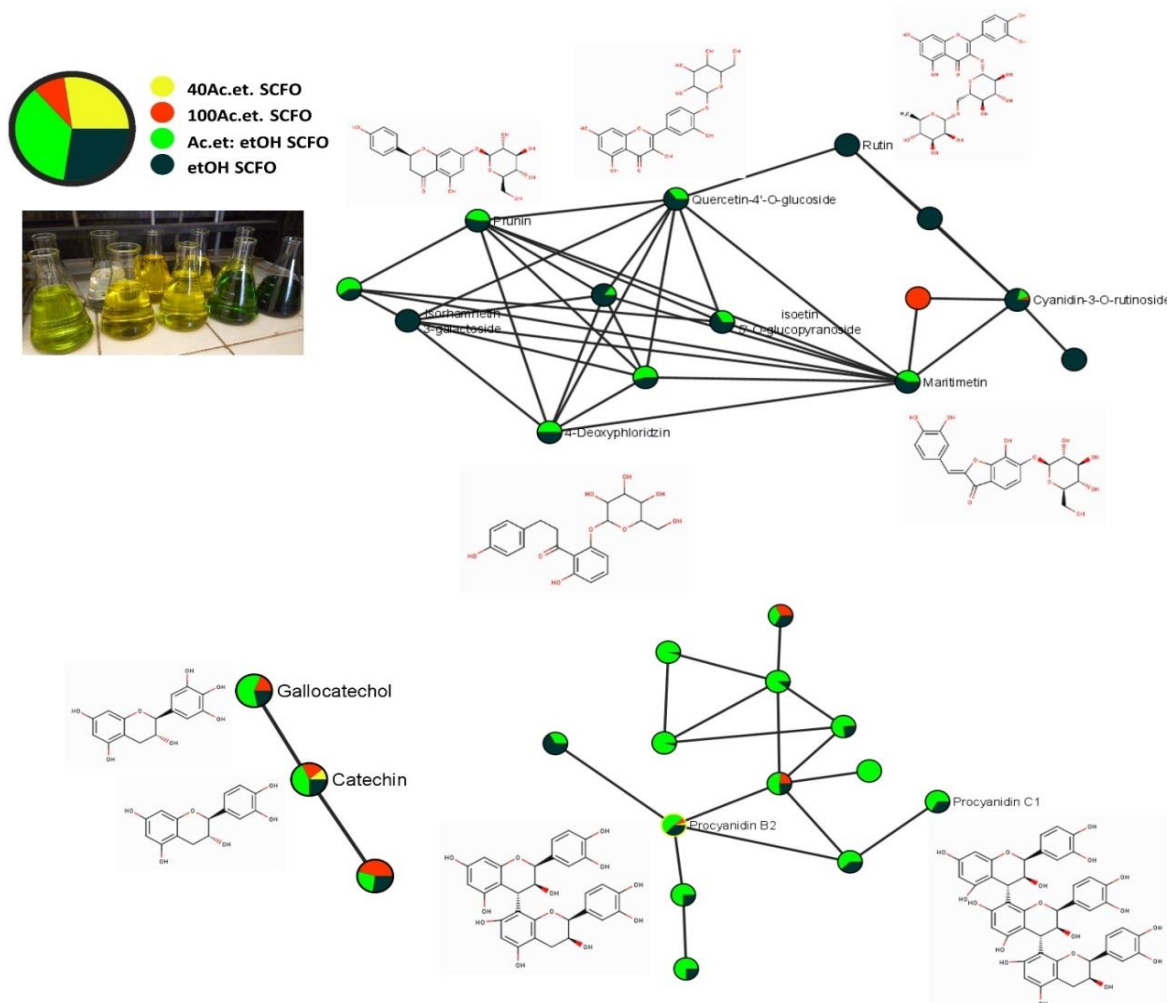
Alguns dos compostos notados nas frações das folhas e frutos foram anteriormente identificados na desrepliação dos extratos das partes da *Senna cearensis* em comparação com a literatura, corroborando com um consenso da identidade dos compostos pelas duas abordagens. Flavonoides como a miricetina, derivados glicosilados da miricetina, foram identificados somente pelos fragmentos de MS/MS para os frutos da *Senna cearensis*.

Figura 11. *Molecular network* gerado para o fracionamento das folhas da *Senna cearensis*



Fonte: Elaborado pelo autor (programa Cytoscape®).

Figura 12. Clusters e compostos identificados por *molecular network* no modo negativos para as frações das folhas da *Senna cearensis*

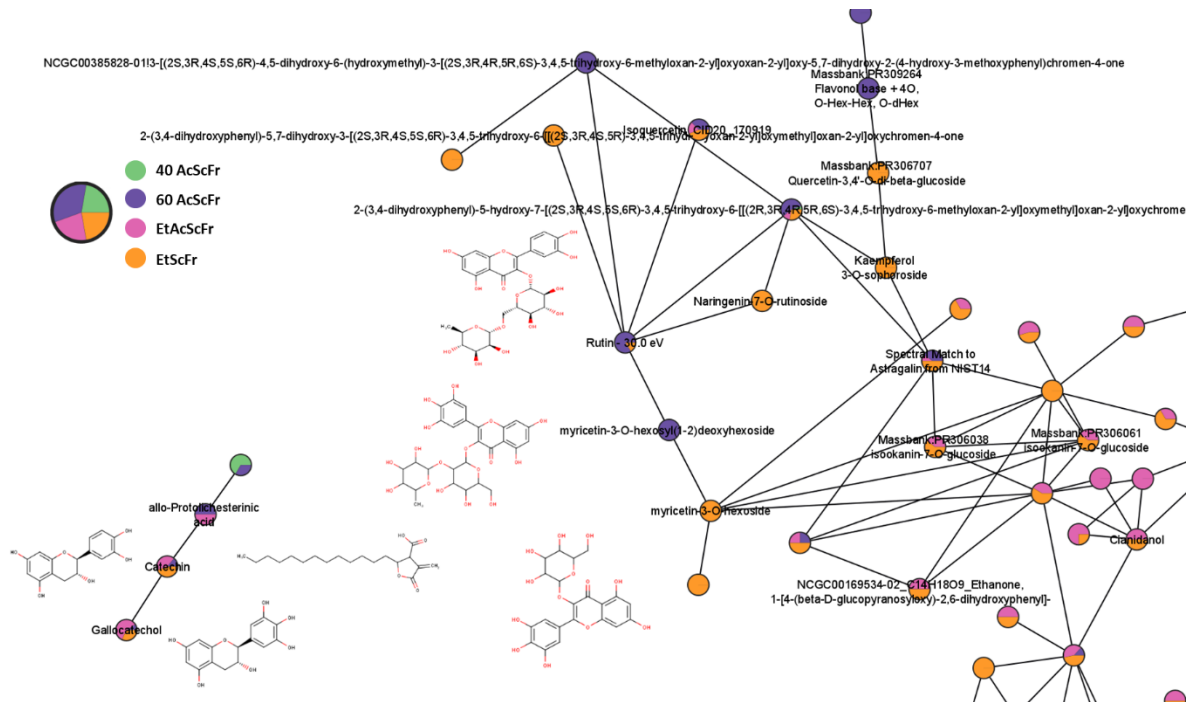


Fonte: Elaborado pelo autor (programa Cytoscape®).

Os compostos anotados encontram-se na Tabela 8. Poucas identificações foram feitas para as frações hexânica (40Sc, 100 Sc, 60 Sc) devido à baixa resolução de alguns picos e a presença de compostos que não estão presentes no banco de dados. As frações das folhas apresentaram uma maior variabilidade química, permitindo a identificação de uma maior quantidade de compostos quando comparado com os frutos. Para os frutos, na fração 60ScFr foi identificado como composto majoritário a rutina e a presença de compostos minoritários como catequinas, a quercetina e ácidos graxos. Ressalta-se a presença de bi e triflavonoides característicos de plantas do gênero *Senna* no tempo de retenção de 26 a 35 min para ambas as partes da *S. cearensis*, como os que foram identificados na seção anterior para as partes da planta em comparação com a literatura. Os compostos identificados nas frações são compostos com bioatividade descrita na literatura, como por exemplo atividade citotóxica para a narigenina, miricetina (AGRAHARAM; GIRIGOSWAMI; GIRIGOSWAMI, 2022;

DRETCANU *et al*, 2022). A desrepliação das frações destaca a rica composição dessa espécie que ainda não foi explorada na literatura como fonte de compostos bioativos.

Figura 13. Clusters e compostos identificados por *molecular network* no modo negativo para frações dos frutos da *Senna cearensis*



Fonte: Elaborado pelo autor (programa Cytoscape®).

Tabela 7. Perfil químico para as frações das folhas da *Senna cearensis* com base no *molecular network*

FRACIONAMENTO DAS FOLHAS									
	Composto	Fórmula molecular	MM (g.mol ⁻¹)	TR (min)	m/z obs	m/z lib	cosine	Picos comp.	Amostra
1.	Isorhamnetina 3-galactosídeo	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₂	478,11	3,00	477,33	479,12	0,83	6	etScFo
2.	Sacarose	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	342,11	3,68	341,33	341,11	0,87	8	40ScFo, etScFo, etAcScFo, 100ScFo
3.	Galocatequina	C ₁₅ H ₁₄ O ₇	306,07	15,35	305,29	305,00	0,93	9	etScFo, etAcScFo, 100ScFo
4.	isookanin-7-O-glucosídeo	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₁	450,12	15,97	451,38	451,123	0,77	6	etScFo, etAcScFo
5.	Procianidina C1	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₈	866,21	18,07	865,70	865,19	0,72	20	etScFo, etAcScFo,
6.	Procianidina B2	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	578,14	18,24	577,491	577,136	0,77	11	etScFo, etAcScFo,
7.	Catequina	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	290,27	19,53	289,26	290,27	0,98	10	40ScFo, etScFo, etAcScFo
8.	Caempferol-3-rutinosídeo 4'-glucosídeo	C ₃₃ H ₄₀ O ₂₀	594,16	19,74	755,61	755,20	0,91	10	etScFo
9.	Iridina	C ₂₄ H ₂₆ O ₁₃	522,14	22,15	523,40	523,14	0,80	6	etScFo
10.	3',4',5,7-Tetrahidróxi-3-[(6-O-beta-D-xilopiranosil-beta-D-glucopiranosil)oxi]flavona	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₆	596,14	22,88	595,39	595,13	0,76	13	etScFo
11.	Rutina	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	610,15	23,28	609,15	609,44	0,91	9	etScFo

FRACIONAMENTO DAS FOLHAS									
	Composto	Fórmula molecular	MM (g.mol ⁻¹)	TR (min)	m/z obs	m/z lib	cosine	Picos comp.	Amostra
12.	Lariciresinol-4-O-glucopiranosídeo	C ₂₆ H ₃₄ O ₁₁	360,16	23,73	521,42	521,20	0,70	6	etScFo
13.	Miricetina-3-O-galactosídeo	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₃	318,04	23,80	479.43	481.09	0,77	6	etScFo
14.	Quercetina-4'-O-glucosídeo	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	463,09	24,43	463.40	463.09	0,90	6	etScFo etAcScFo
15.	Maritimetina-6-O-glicosídeo	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	448,10	24,69	449.41	449.11	0,96	6	etScFo etAcScFo
16.	Cianidina-3-O-rutinosídeo	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	594,16	26,36	593.53	595.16	0,95	6	etScFo, etAcScFo, 100ScFo
17.	5-hidróxi-7-[3,4,5-trihidróxi-6-(hidróximetil)oxan-2-il]oxi-2-[4-(3,4,5-trihidróxi-6-metiloxan-2-il)oxifenil]chromon-4-ona	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₄	578,16	26,65	577.45	579.17	0,90	6	etScFo
18.	Prunin	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₀	434,12	27,46	433.38	433.11	0,93	7	etScFo, etAcScFo
19.	4-Deoxyphloridzin	C ₂₁ H ₂₄ O ₉	420,14	30,42	419.40	419.13	0,84	6	etAcScFo
20.	Tricina-5-glucosídeo	C ₂₃ H ₂₄ O ₁₂	492,13	30,62	491.335	491.12	0,84	6	etScFo

FRACIONAMENTO DAS FOLHAS									
	Composto	Fórmula molecular	MM (g.mol ⁻¹)	TR (min)	m/z obs	m/z lib	cosine	Picos comp.	Amostra
21.	9,12,13, TriHODE	C ₁₈ H ₃₂ O ₅	328,22	38,24	327,49	327,22	0,81	7	etScFo etAcScFo
22.	Naringenina	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	272,07	38,91	271,23	271,06	0,92	8	etAcScFo,100ScFo
23.	Ácido protoliqueterínico	C ₁₉ H ₃₂ O ₄	324,23	43,14	321,30	323,22	0,88	7	40ScFo, etScFo, 100ScFo

Fonte: Elaborado pelo autor. MM: massa molecular, TR: tempo de retenção (minutos), m/z lib: razão massa/carga biblioteca, m/z obs: razão massa/carga observado, obs: ScFo: *Senna cearensis* folhas.

Tabela 8. Perfil fitoquímico para as frações dos frutos da *Senna cearensis* com base no *molecular network*

FRACIONAMENTO DOS FRUTOS									
	Composto	Fórmula molecular	MM (g.mol ⁻¹)	TR (min)	m/z obs	m/z lib	cosine	Picos comp.	Amostra
1.	Sacarose	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	342,11	3,67		341,109	0,94	8	etAcScFr, 60AcScFr, etScFr
2.	Procianidina B1	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	578,14	15,06	577,489	577,135	0,88	16	etAcScFr, etScFr
3.	Galocatequina	C ₁₅ H ₁₄ O ₇	306,07	15,43	305,254	305,0	0,92	9	etAcScFr, 60AcScFr, etScFr
4.	Quercetina 3,4'-diglicosídeo	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₇	626,14	15,9	625,504	625,141	0,88	12	etScFr
5.	Catequina	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	290,27	19,47	289,255	290,27	0,96	10	etAcScFr, etScFr
6.	Miricetina-3-O-hexosil (1-2)deoxihexosídeo	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₇	626,15	21,23	625,429	625,113	0,74	6	60AcScFr
7.	Geniposídeo	C ₁₇ H ₂₄ O ₁₀	388,14	21,55		433,135	0,90	6	60AcScFr, etScFr

FRACIONAMENTO DOS FRUTOS									
	Composto	Fórmula molecular	MM (g.mol ⁻¹)	TR (min)	m/z obs	m/z lib	cosine	Picos comp.	Amostra
8.	miricetina-3-O-hexosídeo	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₃	480,09	21,99	479,325	479,077	0,83	9	etScFr
9.	Rutina	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	610,15	23,28	609,53	609,146	0,96	13	60AcScFr, etScFr
10.	Isookanina-7-O-glucosídeo	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₁	450,11	24,30	449,384	449,109	0,89	6	etAcScFr, etScFr,
11.	Isoquercetin	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	464,09	24,43	463,392	464,38	0,91	9	etAcScFr, 60AcScFr, etScFr
12.	Naringenina-7-O-rutinosídeo	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₄	580,18	26,54	579,424	579,172	0,71	6	etScFr
13.	Quercetin	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	302,04	34,93	301,24	301,035	0,88	8	etAcScFr, 60AcScFr
14.	Naringenina	C ₁₅ H ₁₂ O ₅	272,07	38,82	271,284	271,061	0,89	7	etScFr
15.	Ácido protoliquesterínico	C ₁₉ H ₃₂ O ₄	324,23	44,38	321,356	323,221	0,92	8	etAcScFr, 60AcScFr, etScFr, 40AcScFr

Fonte: Elaborado pelo autor. Fonte: Elaborado pelo autor. MM: massa molecular, TR: tempo de retenção (minutos), m/z lib: razão massa/carga biblioteca, m/z obs: razão massa/carga observado, obs; ScFr: *Senna cearensis* frutos.

3.4.4 Ensaio citotóxico *In vitro*

O extrato das folhas da *Senna pendula* e do composto nomeado SSP1 foram testados contra linhas de células tumorais em um ensaio *in vitro*. Os resultados encontram-se na Tabela 9. O extrato etanólico da *S. pendula* apresentou uma baixa citotoxicidade às células testadas, assim como o composto SSP1. A baixa atividade do SSP1 pode ser associada à presença de impurezas no sólido. O extrato de melhor atividade citotóxica é o extrato das folhas da *S. cearensis* (SCFR), como inibição do crescimento para a linhagem celular SNB-19 (Glioblastoma) de 73,93%. O SCFR é um dos extratos da *S. cearensis* de maior variabilidade química, de acordo com os resultados observados na análise da sua composição. O extrato das folhas da *S. cearensis* (SCFO) mostraram uma alta citotoxicidade para a linha celular HCT-116 (Carcinoma de cólon - humano), esse efeito pode ser atribuído a presença de diversos flavonoides com potencial antitumoral em sua composição, como a miricetina, rutina, quercetina, caempferol, isookanin, marimetina e entre outros notados pelas análises de LC-MS/MS. Carmona *et al* (2014) demonstraram que a combinação de quercetina e caempferol mostraram efeito citotóxico mais efetivo contra a linhagem HCT-116 ao serem combinados do que quando testados separadamente.

Os resultados de citotoxicidade podem ser atribuídos ao efeito sinérgico dos diversos compostos bioativos presentes no extrato. Devido à massa insuficiente de flores coletadas não foi possível realizar os testes citotóxicos para os extrato das flores da *Senna cearensis*. No entanto, Franca *et al* (2022) relataram a atividade citotóxica do extrato etanólico das flores da *S. cearensis*, destacando o efeito citotóxico na linha celular HL60 (Leucemia), com uma inibição do crescimento de 81,65 %. Esses resultados apontam para a rica composição de compostos bioativos com efeito antitumoral presentes nas partes da *Senna cearensis*.

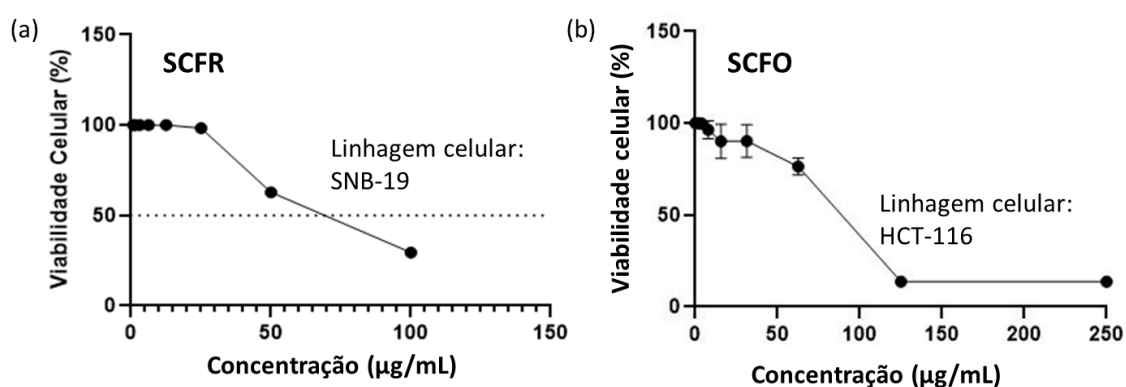
Para determinação da IC_{50} , a amostra SCFR e SCFO foram selecionadas, uma vez que apresentaram capacidade de inibição acima de 70% na etapa de avaliação em concentração única. Para o ScFr, SNB-19, a IC_{50} (Figura 14) obtida na linhagem foi de 66,85 $\mu\text{g/mL}$ na linhagem citada, com intervalo de confiança 64,14 a 69,73 $\mu\text{g/mL}$.

Tabela 9. Percentual de inibição do crescimento (IC%) dos compostos frente as linhagens tumorais nas concentrações únicas de 100 µg/mL (para as frações), 10 µg/mL (substâncias puras)

Amostras	Percentual de Inibição (\pm desvio padrão)		
	PC3	SNB-19	HCT-116
Doxorrubicina	94,93 \pm 1,35	91,05 \pm 1,07	94,76 \pm 0,28
SPF	16,96 \pm 3,67	> 25	3,61 \pm 0,43
SSP1	4,00 \pm 2,93	18,83 \pm 1,32	1,19 \pm 1,31
SCFR	34,41 \pm 0,76	73,93 \pm 1,63	42,03 \pm 3,32
SCFO	18,93 \pm 1,45	8,33 \pm 2,32	80,10 \pm 1,17
SCTA	55,65 \pm 2,82	46,25 \pm 2,68	40,12 \pm 3,72

Fonte: Elaborado pelo autor. SNB-19 (Glioblastoma), HCT-116 (Carcinoma de cólon - humano) e PC3 (Carcinoma de próstata). SPF: Extrato etanólico *Senna pendula* folhas; SSP1: Composto 1 isolado da *Senna pendula*; SCFR: *Senna cearensis* frutos; SCFO: *Senna cearensis* folhas; SCTA: *Senna cearensis* talos.

Figura 14. Gráfico de IC₅₀ na linhagem (a) SNB-19 para a amostra ScFr e (b) HCT-116 para a amostra ScFo



SCFR: extrato etanólico dos frutos da *Senna cearensis*; SCFO: extrato etanólico das folhas da *Senna cearensis*
Fonte: Elaborado pelo autor.

4. CAPÍTULO 2. SCREENING VIRTUAL DE FLAVONOIDES DO GÊNERO *CHAMAECRISTA*: ADME, PROPRIEDADES FARMACOCINÉTICAS, INTERAÇÕES DOS COMPLEXOS FLAVONOIDE-DNA POR DOCKING E DINÂMICA MOLECULAR

4.1 Estudo *in silico* dos compostos do gênero *Chamaecrista*

O gênero *Chamaecrista* (Família Fabaceae) conta com mais de 330 espécies distribuídas nos trópicos, principalmente Ásia, África e América do Sul. As plantas do gênero são uma fonte de terpenos, flavonoides, antraquinonas e cumarinas interessantes para sua aplicação medicinal (THANH *et al.*, 2022; GOMES *et al.*, 2021). As espécies de *Chamaecrista* são utilizadas na medicina popular, principalmente em países emergentes e em desenvolvimento, como anticonvulsivante para o tratamento de epilepsia e convulsões (MEDUGU *et al.*, 2020), tratamento de convulsões febris e infecções virais (GUMISIRIZA *et al.*, 2021).

Nos trabalhos mais recentes sobre o gênero, destaca-se a presença de compostos bioativos nos extratos das plantas, como no trabalho de Gomes e colaboradores (2021) em que o alto teor de compostos fenólicos, como flavonoides, resultaram numa boa capacidade antioxidante das folhas da *Chamaecrista diphylla*. Lima e colaboradores (2022) investigaram o perfil metabólico e citotoxicidade da *Chamaecrista duckeana*, destacando o efeito anticâncer contra as linhagens tumorais HL60 e RAJI. Thanh e colaboradores (2022) isolaram dois fenilpropanoides da *Chamaecrista pumila* que apresentaram resultados promissores nos testes de atividade anti-inflamatória. Apesar da grande quantidade de espécies do gênero e ampla distribuição em diversos países, apenas poucas espécies foram investigadas de acordo com os resultados do levantamento bibliográfico. O estudo da aplicação medicinal de plantas do gênero *Chamaecrista* se faz relevante pela sua presença e uso em países emergentes, pois muitas comunidades de países emergentes dependem de remédios naturais por não poderem arcar com fármacos comerciais e não receberem ajuda financeira para comprá-los (MEDUGU *et al.*, 2020; GUMISIRIZA *et al.*, 2021).

O uso de recursos de bioinformática contribui para a valorização da composição química do gênero ao fornecer importantes informações acerca das propriedades *drug-like* de muitos compostos que inclusive foram identificados e isolados apenas em espécies do gênero. As ferramentas de predição de propriedades farmacocinéticas e as simulações computacionais são mais econômicas e rápidas quando comparado aos métodos de bioensaios *in vitro* ou *in*

vivo. Os resultados obtidos por meio destas ferramentas podem nortear ensaios, potenciais aplicações e compostos a serem isolados das espécies estudadas.

4.2 Estudo *in silico* de moléculas com potencial farmacológico: uma revisão

O processo de descoberta de fármacos possui um considerável número de etapas a serem executadas para que um dado composto (*lead*) seja considerado uma droga segura e eficiente, com potencial para disponibilidade no mercado. Tal processo dura pelo menos 10 anos e a primeira fase consiste na pesquisa e desenvolvimento em que vários compostos serão testados e as suas propriedades, farmacocinética e mecanismos de ação determinados (FEIJOO *et al*, 2020). Na segunda fase são feitos ensaios pré-clínicos *in vitro* e *in vivo*. Na terceira fase, a mais longa, os testes e estudos são feitos em pessoas. Em torno de 70 % das drogas na fase 2 (etapa de testes pré-clínicos) não irão passar para a próxima fase. Uma seleção criteriosa de compostos pode ajudar a diminuir as taxas de falhas na fase de teste clínico, pois essa etapa de desenvolvimento é menos dispendiosa que as fases posteriores. Uma diminuição nessas taxas de falhas pode aumentar o lançamento de novos medicamentos (LEESON; SPRINGTHORPE, 2007; TIAN *et al.*, 2011).

No que se refere à eficiência de fármacos orais, as propriedades farmacodinâmicas e farmacocinéticas dos compostos no corpo humano são cruciais para atingir o efeito desejado. Os princípios ativos de fármacos orais passam por reações metabólicas e processos de adsorção até atingir o sítio de ação desejado. A extensão com a qual uma dose de fármaco oral administrada passa pelo sistema circulatório e atinge o alvo é chamada de biodisponibilidade oral, um importante indicador da absorção de um fármaco. Com o objetivo de tornar o desafio da seleção de fármacos orais mais bem-sucedidos, algumas regras relacionadas à biodisponibilidade foram criadas (FERMINI *et al.*, 2018; MALANDRAKI, MILLER; RILEY, 2021). Essas regras especificam alguns descritores moleculares que estão diretamente ligados à absorção e liberação de uma droga no corpo humano; propriedades como log P (lipofilicidade), peso molecular, ligações de hidrogênio doadoras e receptoras e área polar superficial (PSA). Uma das regras mais conhecidas é a regra de Lipinski - também conhecida como regra dos cinco; regra de Veber e regra dos 3 (para fragmentos). Além de outras regras cuja aplicação depende do tipo de molécula e fase no desenvolvimento como fármaco.

4.2.1 Regra dos cinco de Lipinski e regra de Veber

A regra dos cinco de Lipinski é amplamente utilizada na determinação da drogabilidade de moléculas pequenas por meio de propriedades físico-químicas que tem relação com a farmacocinética do composto. O termo drogabilidade se refere à semelhança que uma molécula tem com moléculas já consolidadas como princípios ativos de medicamentos. Em seu trabalho, Lipinski analisou um banco de dados de moléculas candidatas a fármaco que chegaram à fase II de testes. Lipinski analisou o que essas moléculas tinham em comum com relação às propriedades físico-químicas e com isso observou algumas tendências, como por exemplo: a massa molecular dos compostos diminuía à medida que eles avançavam nas fases de teste clínico (LIPINSKI, 1997). Entretanto, é importante destacar que essa regra possui suas limitações: aplica-se somente para fármacos orais; nem todo fármaco que não obedecer às regras não é um fármaco promissor; regra válida para moléculas pequenas.

Na regra dos cinco, para que as moléculas sejam consideradas como *drug-like* (semelhante a drogas) devem obedecer a pelo menos três dos seguintes critérios:

- Massa molecular menor que 500 g.mol^{-1} ;
- Log de P, relacionado à lipofilicidade, menor que 5;
- Ligações de hidrogênio doadoras menor de 5;
- Ligações de hidrogênio receptoras menos que 10;

Todas estas propriedades citadas têm relação com a absorção, permeabilidade e flexibilidade dos compostos como fármacos orais. O log de P é um parâmetro descritor do caráter hidrofóbico de uma molécula. O coeficiente de partição, P, é a razão da concentração do composto solúvel em octanol em razão da concentração solúvel em solução aquosa. Esse caráter é importante para um fármaco, pois determina quão facilmente ele irá passar pela membrana celular e é importante para as suas interações como o receptor. O peso molecular também está relacionado como a permeabilidade, pois moléculas grandes são mais difíceis de passar por barreiras como, por exemplo, a barreira hematoencefálica. A limitação do número de ligações de hidrogênio aceitadoras e doadoras justifica-se pelo fato de que um excessivo número dessas dificulta a permeabilidade da molécula na bicamada da membrana celular (LIPINSKI, 1997).

A regra de Veber utiliza parâmetros que não estão presentes na regra de Lipinski, mas estão relacionados a eles, associando propriedades químicas específicas à biodisponibilidade oral em ratos. Veber associa os resultados obtidos de biodisponibilidade em ratos de um grupo de moléculas candidatas a fármacos (1100) com a sua flexibilidade molecular. De acordo com o estudo, 75% das moléculas com contagem de ligações rotacional menor que dez apresentaram uma biodisponibilidade oral em ratos maior que 20%, o critério mínimo de biodisponibilidade oral para que uma molécula possa ser considerada um candidato a fármaco e dentre essas moléculas 80% tem área superficial polar menor que 140 Å. Os autores associam os resultados à flexibilidade das moléculas, uma vez que moléculas mais flexíveis não se adequam às restrições compatíveis com os alvos de ligação (VERBER *et al.*, 2002).

4.2.2 ADME (Absorção, Distribuição, Metabolismo e Excreção)

As propriedades ADME (Absorção, Distribuição, Metabolismo e Excreção) estão associadas ao movimento de um fármaco através do corpo após sua ingestão até sua fase de eliminação. Após ingestão oral, o fármaco é absorvido pelo trato gastrointestinal, entra no sistema hepático e em seguida tem acesso ao sistema circulatório. Essa primeira etapa é chamada de absorção. Um prescritor importante dessa etapa é a absorção gastrointestinal do fármaco. A segunda etapa, distribuição, consiste na passagem do fármaco no plasma sanguíneo para o alvo. Um parâmetro importante na distribuição é a barreira hematoencefálica (*Blood-Brain Barrier* -BBB). A BBB controla a transferência de nutrientes e células do sangue para o cérebro e vice-versa. Uma boa permeabilidade na BBB é importante para medicamentos que precisam acessar o sistema nervoso central (RODRIGUES *et al.*, 2016; SONG *et al.*, 2009).

Na fase de metabolismo, ocorre a transformação química das moléculas no plasma; nessa etapa a molécula pode reagir por meio de reações metabólicas, como descritas na Figura 15. Algumas dessas reações podem ocasionar a diminuição da eficiência do fármaco por enzimas ou na conversão da molécula ativa em uma não-ativa ou o inverso em que as reações metabólicas produzem moléculas mais ativas. Essa é uma etapa importante, pois muitas enzimas são responsáveis pela resistência multidrogas de alguns alvos. A etapa de metabolismo determina se uma molécula é inibidora ou substrato de algumas das principais enzimas responsáveis pelo metabolismo de fármacos.

As enzimas citocromo P450 (CYP) são consideradas uma grande família de enzimas capazes de catalisar biotransformações oxidativas da maioria das drogas lipofílicas. As enzimas mais significativas são: CYP3A4, CYP2D6, CYP2C9, CYP1A2, CYP2C8 e CYP1C19. Essas enzimas afetam cerca de 70 a 80 % do metabolismo dos fármacos. Ainda no que se refere às interações das moléculas com organismo, é importante destacar a proteína P-gp que está relacionada à resistência multidrogas no tratamento de algumas doenças, exemplo, tumores. A proteína P-gp pertence a uma superfamília de sistema de transporte (ABC) e é uma proteína de transporte que pode exportar o fármaco para fora da célula. Uma molécula por ser um inibidor, um substrato ou um indutor da proteína P-gp (SRIVALLI; LAKSHMI, 2012).

Figura 15. Ilustração de reações metabólicas de fármacos.



Fonte Elaborada pelo autor.

4.2.3 Fração sp^3

Um parâmetro novo para medir a drogabilidade de uma molécula é a fração de carbonos sp^3 , F_{sp^3} . A fração sp^3 é o número de carbonos hibridizados sp^3 em razão da contagem total de carbonos. Lovering e colaboradores (2009) propuseram esse parâmetro considerando que as regras de Lipinski, TPSA e ligações rotacionais não descrevem a complexidade de uma molécula e que o aumento da saturação possibilita a construção de moléculas mais complexas. A complexidade impacta na afinidade e especificidade da interação da molécula com o alvo, moléculas mais complexas, segundo o autor, podem acessar espaços químicos maiores, incluindo moléculas que não se encaixam nas regras de Lipinski ou Veber. Wei e colaboradores (2020) observaram que 84 % dos fármacos disponíveis no mercado têm um $F_{sp^3} \geq 0,42$; no trabalho, também se destaca que os produtos

naturais contêm um alto número de fração sp^3 . O aumento da F_{sp^3} aumenta a isomeria, solubilidade, caráter tridimensional e diminui o caráter planar (LOVERING *et al*, 2009).

4.2.4 Ferramentas de pesquisa de propriedades *in silico*

As técnicas de pesquisa *in silico* de propriedades e vias de ação de um fármaco podem ser muito úteis na determinação de propriedades importantes na primeira fase de estudos de composto para aplicação como fármaco oral. Atualmente, existe uma vasta quantidade de plataformas de banco de dados que fornecem dados de ADME, absorção gastrointestinal, possíveis alvos, propriedades da regra de Lipinski, Veber e entre outros (YU; ADEDOYIN, 2003). O uso dessas plataformas, muitas gratuitas, facilita o levantamento de dados sobre moléculas de interesse; inclusive para moléculas de que não se tem informações experimentais a respeito, pois os dados podem ser fornecidos no formato SMILES. Na Tabela 10 estão listadas seis plataformas que fornecem dados de propriedades farmacocinéticas e ADMET.

Tabela 10. Plataformas on-line gratuitas de propriedades farmacocinéticas e ADME

Plataforma	Formatos de entrada	Resultados	Citações*	Website
Swiss ADME	SMILES, MOL, SDF, RDF, PDB, 3D a molécula pode ser desenhada na plataforma	Propriedades ADME, propriedades físico-químicas, dados de lipofilicidade e solubilidade e regras de drogabilidade.	2493	http://www.swissadme.ch/
SwissTargetPrediction	SMILES, MOL, SDF, RDF, PDB, 3D a molécula pode ser desenhada na plataforma	Principais classes de receptores com que a molécula pode interagir em humanos e roedores	440	http://www.swisstargetprediction.ch/

Plataforma	Formatos de entrada	Resultados	Citações*	Website
Molsoft	MOL, SMILES e Inchi	<i>Drug-likeness score</i> , propriedades físico-químicas, BBB (<i>blood brain barrier</i>) score	861	https://molsoft.com/mprop/
Molinspiration	SMILES	Propriedades físico-químicas e predição da bioatividade	1601	https://www.molinspiration.com/cgi-bin/properties
pkCSM	SMILES	Predição de propriedades farmacocinéticas de moléculas pequenas	551	https://biosig.lab.uq.edu.au/pkcsm/
ADMET SAR	SMILES	Predição de propriedades ADMET	539	http://lmmd.ecust.edu.cn/admet_sar1/predict/

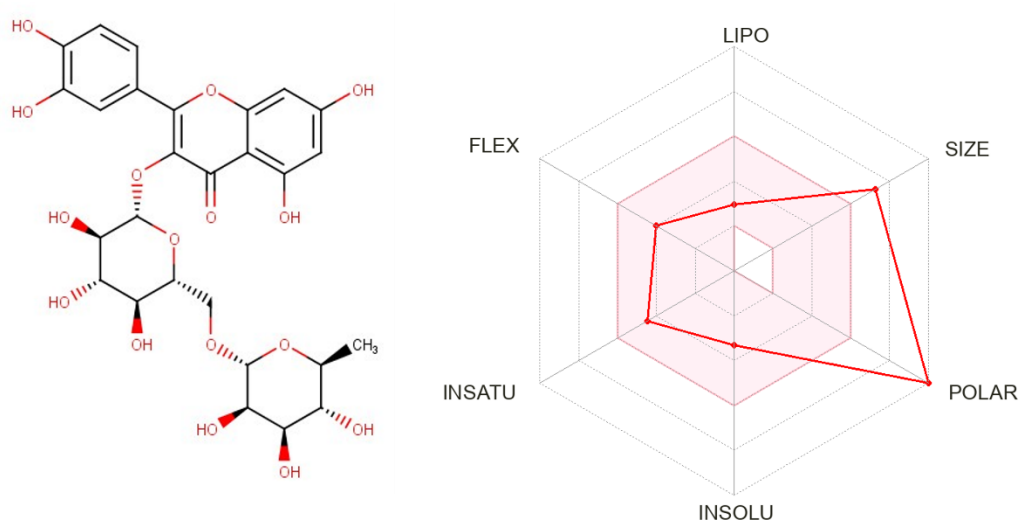
Fonte: elaborado pelo autor. *consulta feita no ScienceDirect em março de 2023.

A plataforma SwissADME foi utilizada neste trabalho para predição das propriedades ADME de moléculas selecionadas. A SwissADME fornece valores de log P por diferentes métodos matemáticos, assim como para a solubilidade em água. Os resultados informam quantas violações as moléculas têm às regras de Lipinski, Veber, Ghose, Egan e Muegge. *Scores* de drogabilidade também são fornecidos. Com as informações fornecidas é gerado um gráfico do tipo radar que expressa se as moléculas estão dentro de um espaço adequado para drogas orais biodisponíveis (Figura 16). A lipofilicidade no gráfico se refere ao log P; a flexibilidade, ao número de ligações rotacionais; as insaturações à F_{sp^3} ; insolubilidade ao Log S; tamanho ao peso molecular (MM) e polaridade à TPSA. Na área em vermelho - espaço com propriedades adequadas de acordo com a plataforma- os valores são: TPSA, 20-130 Å; log P, -0,7-5,0; log S, 0-6; F_{sp^3} , 0,25-1; MM 150-500 g.mol⁻¹.

A drogabilidade de uma molécula pode ser mensurada teoricamente ao comparar suas propriedades e estrutura com moléculas já comprovadas cientificamente e conhecidas

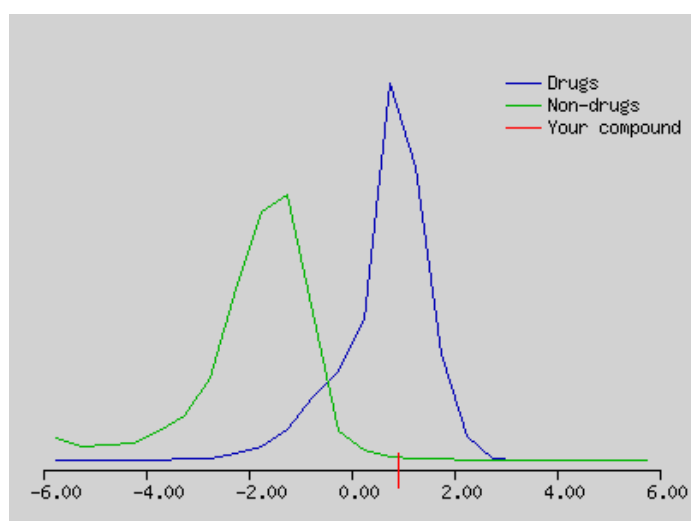
comercialmente como fármacos. A Molsoft® em sua plataforma on-line compara uma molécula fornecida com um vasto banco de dados de moléculas que são fármacos de acordo com *World drug index* e com aquelas que têm resultados negativos como medicamento. Um valor de *drug-likeness score* é fornecido e um gráfico que compara a molécula com o banco de dados (Figura 17). Usando os dados fornecidos por essas plataformas é possível prever quais compostos de um banco de dados de origem natural possuem propriedades adequadas de acordo com as regras para pequenas moléculas para ser um potencial *hit* ou *lead*.

Figura 16. Gráfico gerado pela SwissADME para a rutina



Fonte: Swiss ADME®.

Figura 17. Gráfico de *drug-likeness score* gerado pela Molsoft para a rutina



Fonte: Molsoft®.

4.2.5 *Molecular docking* e dinâmica molecular no estudo de produtos naturais

O uso de simulações computacionais como *molecular docking* e dinâmica molecular no estudo de produtos naturais é crescente e tem auxiliado na determinação de vias de ação de compostos com atividade farmacológica, potenciais novas aplicações e explicação do uso tradicional de plantas medicinais (ASIAMAH *et al*, 2023). A inclusão de simulações computacionais no processo de criação e descoberta de fármacos torna esse processo menos dispendioso e demorado.

Por meio do *molecular docking*, por exemplo, é possível fazer o *screening* virtual de grandes grupos de moléculas na identificação de *hits*, auxiliando na seleção de compostos a serem sintetizados e testados *in vitro* e *in vivo* (MA; CHAN; LEUNG, 2011). Os estudos de dinâmica molecular também são utilizados na área de produtos naturais para estudar a interação de uma molécula com um determinado alvo (macromolécula) em um curto intervalo de tempo (nanossegundos), gerando resultados referentes à estabilidade do complexo formado no equilíbrio, conformação dos ligantes, energias e distância das interações intermoleculares presentes no complexo dos ligantes (NAMBA; SILVA; SILVA, 2008). Essas duas técnicas em conjunto ou separadamente têm sido amplamente utilizadas na literatura para a investigação de compostos com potencial antitumoral, antimalárico, inibidores do corona vírus e muitos outros (PANAT *et al*, 2016; TRIPATHI *et al*, 2022; MOOLMAN *et al*, 2020).

4.2.6 *Molecular docking*

A analogia de chave e fechadura é muito utilizada para exemplificar a especificidade da interação de uma molécula ativa com seu receptor, produzindo um determinado efeito, seja a promoção ou bloqueio de uma atividade biológica. No *molecular docking*, a simulação entre uma pequena molécula (ligante) e uma macromolécula (alvo) pode ser relacionada a esse sistema de chave-fechadura - essa macromolécula pode ser uma enzima, proteína ou DNA (TRIPATHI; BANKAITIS, 2017). Por meio dessas simulações é possível determinar o melhor posicionamento ou conformação do ligante ao interagir com o alvo (chamadas de poses), avaliar a força de interação do ligante em uma pose específica com o alvo e ranquear as melhores conformações do ligante com o sítio ativo.

A execução das simulações de *docking* seguem alguns passos importantes: escolha do ligante e do alvo e definição do protocolo de *docking*. O alvo de um fármaco pode ser uma enzima, proteína ou DNA (principalmente em fármacos anticâncer) e a definição do

alvo para os estudos de *docking* leva em consideração a doença estudada e os possíveis meios de inibição dela a partir das interações com um ligante (MA; CHAN; LEUNG, 2011). Com o alvo selecionado, a sua estrutura é obtida por meio de bancos de dados de estruturas disponíveis; o PDB (RSCB *Protein Databank*, <https://www.rcsb.org>) é amplamente utilizado para obtenção da estrutura de alvos para cálculos de *docking*, em que é possível obter a estrutura 3D do alvo

Para a seleção do ligante oriundo de produtos naturais pode ser utilizado algum banco de dados, como por exemplo, o ZINC (IRWIN *et al*, 2020) e o NuBBEDB (VALLI *et al*, 2013) que fornecem a estrutura de milhares de compostos fitoquímicos, a partir dos quais é possível fazer um *screening* virtual na busca de *hits* ou *leads* de acordo com o objetivo do estudo. Em muitos estudos são utilizados compostos que já possuem alguma bioatividade estudada com o objetivo de encontrar novas aplicações farmacológicas ou explicar um mecanismo de ação. Com as estruturas obtidas, é feita a otimização das estruturas e geometria dos ligantes para que sejam submetidas aos cálculos. Para moléculas com átomos ionizáveis, por exemplo, é necessária a consideração do estado de protonação ao interagir com o complexo (SIAMAH *et al*, 2023). Por fim, os cálculos de *docking* são feitos em programas como Autodock Vina (TROTT; OLSON, 2010), GLIDE (FRIESNER *et al*, 2006), MOE (Chemical Computing Group ULC, 2023) e GOLD (JONES *et al*, 1997) ou plataformas online de *docking* como o Swissdock (GROSDIDIER; ZOETE; MICHIELIN, 2011).

4.2.7 Dinâmica molecular

A dinâmica molecular estuda as variações dos movimentos de átomos e moléculas de um sistema em função do tempo, tendo como base a mecânica molecular e a interpretação do movimento dos átomos pela lei do movimento de Newton. A partir dessas simulações são obtidas informações sobre a estabilidade do sistema, as energias de interação entre as moléculas e mudanças conformacionais. A dinâmica molecular, aliada ou não ao *docking*, é amplamente utilizada na descrição de sistemas de macromoléculas e seus ligantes no estudo de biomoléculas e na busca de potenciais fármacos. No *docking* molecular, com o objetivo de diminuir a complexidade dos cálculos, em geral, apenas o ligante é considerado flexível e o receptor mantém uma estrutura rígida. Essa aproximação diminui a complexidade, porém promove a perda de informações sobre o sistema ao comparar-se com um sistema real, em que receptor e ligante são flexíveis. Na dinâmica molecular, ambos os componentes do

sistema são flexíveis, fornecendo informações mais detalhadas do comportamento do sistema (NAMBA; SILVA; SILVA, 2008; SANT'ANNA, 2009).

A escala de tempo em uma simulação de dinâmica molecular é a de nanosegundos (10^{-9} segundos); cada simulação envolve centenas de passos de tempo que também incorporam o tempo necessário para que o sistema estudado alcance o equilíbrio. As forças atuantes em uma simulação de MD são calculadas a partir de equações chamadas de campos de força, no qual estão incorporados parâmetros específicos de energia de forças que atuam no ambiente simulado, como por exemplo, interações eletrostáticas (NAMBA; SILVA; SILVA, 2008; HOLLINGSWORTH; DROR, 2018). Alguns campos de força bastantes usados na literatura são o AMBER (TROTT *et al.* 2009), CHARM (HUANG *et al.*, 2016) e entre outros. A escolha do campo de força utilizado no cálculo vai depender das características do sistema estudado. Os campos de força obedecem a seguinte equação geral:

$$V(r) = \sum_{\text{Ligação}} k_l (l - l_0)^2 + \sum_{\text{Ângulos}} k_\theta (\theta - \theta_0)^2 + \sum_{\text{Diedral}} \frac{V_n}{2} (\cos(n\theta - \gamma)) + \sum_{\substack{\text{interações} \\ \text{Não covalentes}}} 4 \epsilon_{ij} \left[\left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right] + \frac{q_i q_j}{4\pi\epsilon_r r_{ij}} \quad (1)$$

Na equação geral do campo de força (1), o primeiro termo é a energia de estiramento da ligação entre dois átomos covalentemente ligados. O segundo termo é referente à energia de deformação do ângulo de ligação em relação ao seu valor de equilíbrio. O terceiro termo é a energia de torção de uma ligação. O quarto termo são as forças não covalentes atuantes sobre o sistema: interação de Van der Waals e eletrostáticas (NAMBA, SILVA & SILVA, 2008).

A partir da definição cautelosa dos parâmetros e execução das simulações são obtidos dados que podem ser representados pelos *frames* de momentos representativos das simulações, valores das distâncias entre as moléculas no complexo e gráficos como os de RMSD ((Desvio quadrático-médio das distâncias dos átomos, *Root Mean Square Deviation*, no inglês) que auxiliam na representação dos resultados. Na área de produtos naturais e descoberta de fármacos, os resultados de dinâmica mostram a flexibilidade de uma biomolécula, sua resposta a perturbações como a mudança de uma ligação química ou de um ligante, na otimização de ligantes na busca por novos *leads*, contribuindo para o avanço na descoberta de novos fármacos a partir de produtos naturais (HOLLINGSWORTH; DROR, 2018). A evolução de técnicas computacionais e integração delas no desenvolvimento de fármacos a partir de produtos naturais torna esse processo menos oneroso, mais rápido, mais acessível e enriquece os potenciais aplicações de produtos naturais.

4.3 Material e Métodos

4.3.1 Banco de dados com compostos

Uma extensa revisão de literatura utilizando as bases Scopus, Scifinder e Sciencedirect foi realizada usando a palavra-chave *Chamaecrista* para o intervalo temporal de 1993 a 2023 e foram considerados artigos de pesquisa e de revisão nessa busca. Todas as estruturas moleculares dos compostos foram obtidas em 2D e 3D, usando o software MarvinSketch® e salvos em arquivos no formato SMILES.

4.3.2 Regra dos cinco de Lipinski

As propriedades da regra dos cinco de Lipinski e Veber foram determinadas por meio das plataformas on-line Molinspiration (<https://www.molinspiration.com/>), Pubchem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>) e o pacote computacional MarvinSketch. Para estudos adicionais, foi estabelecido o parâmetro do composto não apresentar violações à regra de Lipinski assim como $\log P < 3$ e $TPSA < 140 \text{ \AA}$. Dentre os compostos identificados, os flavonoides fisetina, luteolina, apigenina e ononina foram selecionados para uma investigação mais detalhada do seu potencial como fármaco. Para uma análise comparativa dos resultados, o flavonoide nobiletina foi escolhido como um padrão, principalmente para os resultados de *molecular docking* e dinâmica molecular.

4.3.3 Propriedades ADME e score de drogabilidade

As propriedades ADME (DAINA *et al.*, 2017) foram preditas por meio da plataforma SwissADME (<http://www.swissadme.ch/index.php>), o *score* de drogabilidade pelo software disponível *on-line* Molsoft (<https://molsoft.com/mprop/>) e a similaridade dos compostos com estruturas de moléculas com alguma bioatividade conhecida foi feita utilizando a plataforma SwissSimilarity (<http://www.swiss similarity.ch/>). A absorção gastrointestinal dos compostos foi determinada de duas formas: pela plataforma online pkCSM (PIRES *et al.*, 2015) e pela plataforma SwissADME.

4.3.4 Detalhes computacionais

4.3.4.1 Otimização das moléculas

Os estados de protonação das moléculas têm uma influência significativa sobre como elas interagem com o receptor. Com base nos valores de pKa, os estados de protonação dos ligantes estudados foram calculados usando o pacote computacional MARVIN da ChemAxon© (<https://www.chemaxon.com>). As geometrias das estruturas estudadas foram otimizadas usando técnicas padrão (CHAMBERS et al. 2001). Os cálculos de otimização foram realizados usando o método *Density Functional Theory* (DFT) no funcional B3LYP (Perdew et al. 1996) juntamente com o conjunto de base 6-31+G(d,p) implementado no pacote Gaussian 16 (FRISCH et al., 2016).

Os modos vibracionais das geometrias otimizadas foram calculados para determinar se as geometrias resultantes são verdadeiros mínimos ou estados de transição. Todos os cálculos de otimização foram realizados em solução usando *Polarizable Continuum Model* (PCM) com o Formalismo de Equação Integral (IEF) (MENNUCCI et al., 2002), usando água como solvente. As estruturas otimizadas com a menor energia foram usadas para os cálculos de *docking* molecular.

4.3.4.2 Docking molecular

A estrutura de cristal de raios X de um dodecâmero de B-DNA com resolução de 1,90 Å (PDB ID: 1BNA) usada neste estudo foi obtido do RCSB Protein Data Bank (BERMAN et al. 2002). A estrutura do DNA foi preparada para ancoragem molecular removendo as moléculas de água e outras heteromoléculas da estrutura cristalina original. Os arquivos de entrada de encaixe foram criados usando as ferramentas AutoDock das ferramentas MGL. (BERMAN 2002; HOLT 2008) A caixa de grade 3D com um tamanho de caixa de 70 Å x 90 Å x 126 Å com as coordenadas centrais de 14,78 (x), 20,98 (y) e 8,80 (z).

Um espaço de pesquisa muito grande (tamanho da caixa de grade) garante uma pesquisa de toda a estrutura do B-DNA, diminuindo o risco de perder interações relevantes entre os ligantes com essa molécula. O *docking* foi realizado usando as nove melhores poses geradas pelo Autodock Vina (MORRIS et al. 2009) para cada ligante e pontuadas por meio das funções de pontuação do programa. A pose de energia mais baixa de cada ligante foi usada como entrada para simulações de dinâmica molecular (MD).

4.3.4.3 Simulações de Dinâmica Molecular

Todas as simulações de dinâmica molecular (MD) foram realizadas usando o pacote GROMACS 2018.4 (VAN DER SPOEL *et al.* 2005) implementado com o AMBER ff99SB (TROTT *et al.* 2009) O potencial intramolecular transferível com 3 pontos (TIP3P) de moléculas de água foi usado para solvatar os sistemas simulados. A neutralização dos sistemas foi obtida pela adição de contra-íons. O algoritmo Leap-Frog (JORGENSEN *et al.*, 1983) foi aplicado para integrar a equação de movimento com um passo de tempo de 2,0 fs. As interações de longo alcance foram modeladas usando soma de Ewald de malha de partículas (PME) com um corte de 1,2 nm. As interações de van der Waals também foram calculadas usando o mesmo limiar. As ligações envolvendo átomos de hidrogênio foram restringidas usando o algoritmo LINCS.

O termostato Nosé–Hoover foi usado para fixar a temperatura do sistema (310 K) em todas as simulações de produção, enquanto a pressão do sistema foi controlada usando um baróstato Parrinello–Rahman (HOOVER *et al.*, 1985) nas simulações NPT. A geometria dos sistemas foi minimizada pelo algoritmo de *steepest descent* para 10.000 passos com tolerância de 10 kJ mol⁻¹ nm⁻¹ seguido pelo algoritmo de gradiente conjugado para 10.000 passos com tolerância de 10 kJ.mol⁻¹ nm⁻¹. Duas dinâmicas de equilíbrio curtas de 20 ns com *ensemble* NVT e NPT foram realizadas.

Finalmente, a simulação de MD de produção de 200 ns foi simulada em três réplicas usando o ensemble NVT para cada sistema para determinar a energia de interação entre os ligantes e o B-DNA. Para analisar a energia de interação entre ligantes e B-DNA foi utilizada a Energia Potencial de Interação (IPE) (AMORIM-CARMO *et al.* 2019), que pode ser definida como a energia total de interação entre dois grupos, ligante e DNA.

Para analisar a energia de interação entre os ligantes e o B-DNA, foi utilizada a Energia Potencial de Interação (IPE, no inglês), que pode ser definida como a energia de interação total entre os dois grupos (a soma das contribuições eletrostáticas e de Van der Waals). O IPE foi calculado de acordo com a equação a seguir:

$$IPE_{i,j} = \sum_i^{N_i} \sum_{j \neq i}^{N_j} V_{vdW}(r_{ij}) + V_{elec}(r_{ij}) \quad (2)$$

Em que IPE_{i,j} é a energia de interação entre um grupo de átomos i e um grupo de átomos j, e N_i e N_j são o número total de átomos nos grupos i e j, V_{elec} e V_{vdW} são os termos correspondentes as contribuições eletrostática e de Van der Waals, respectivamente. Este

parâmetro é frequentemente usado para avaliar energias de interação em sistemas proteína-ligante e proteína-proteína. Para cálculos de IPE, os átomos de ligante e B-DNA foram considerados no cálculo.

4.4 Resultados e Discussão

4.4.1 Banco de dados dos compostos e propriedades farmacocinéticas

A revisão da literatura das espécies do gênero *Chamaecrista* resultou na identificação de 164 compostos diversicamente estruturados que pertencem a 14 classes biossintéticas. As espécies de *Chamaecrista* com relatos de composição química são *C. absus* (SEBEI *et al.* 2014), *C. dyphilla* (GOMES *et al.* 2021), *C. duckeana* (LIMA *et al.* 2022; LOPES *et al.* 1993), *C. flexuosa* (BARBA *et al.* 1992), *C. greggii* (BARBA *et al.* 1994), *C. nigricans* (Tangavelou *et al.* 2018); *C. nictitans* (QUIRÓS-GUERRERO *et al.* 2019; MATEOS-MARTÍN *et al.* 2014) e *C. pumila* (THANH *et al.*, 2022). Os compostos de *C. ensiformis* foram identificados pelo nosso grupo de pesquisa. As classes mais frequentes são flavonoides, polifenólicos, terpenoides e antraquinonas.

As ferramentas *on-line* de predição de propriedades físico-químicas mostraram que 39% dos compostos não violam à regra de Lipinski; os outros têm principalmente 2 ou 3 violações. As violações à regra dos cinco são geralmente devidas às contagens de ligações de hidrogênio e ao peso molecular. Em relação aos valores de lipofilicidade, log P, 57% das moléculas seguem a regra ($\log P \leq 5$). As violações da regra do composto natural por classe estão na Tabela 11. As propriedades de Lipinski e ADME de cada composto encontram-se no Anexo C.

Tabela 11. Propriedades da regra de Lipinski de acordo com a classe dos compostos

Classe	MM	LHA	LHD	Log P	LR	Viol.R5 ^f		Drug-like score
						Sim	Não	
FENÓIS	530-1075	7-20	4-17	0.91-6.64	2-7	31	1	-1.11-0.79
FLAV	270-756	6-20	3-11	-2,36-2.49	1-12	42	7	-0.1-1.09
ANTR	342-446	6-10	0-5	-3.39-3.87	3-9	0	20	-0.81-0.66
TERP	288-602	1-13	0-6	-0.64-8.88	0-9	6	10	-0.98-0.29
OUTROS	148-578	1-14	0-11	-2.58-8.92	0-15	13	20	-1.74-0.96
ÁCIDO	189-390	1-5	0-4	2.27-7.58	0-16	7	7	-0.89-0.30

Fonte: Elaborado pelo autor. MM: Massa Molecular, g.mol⁻¹, LHA: ligação de hidrogênio aceitadora, LHD: ligação de hidrogênio doadora, log P: log do coeficiente de partição; LR: número de ligações rotacionais, R5: regra de cinco, fenol: polifenólico, FLAV: flavonoide, TERP: terpenos, OTHR: óleo essencial, acetato, lactona, cumarina, semiquinona-chalcona, esteroide fenilpropanóide, cromona, ACID: ácido carboxílico.

Um *ranking* dos compostos sem violação das regras foi feito para submetê-los a estudos computacionais posteriores. Além da regra dos cinco, o número de ligações rotacionais também foi usado para selecionar os compostos, considerando que o número de ligações rotacionais diminui a afinidade de ligação do ligante e a biodisponibilidade oral em ratos (LIPINSKI, 2004). Os compostos com um log de P de até 3 e ligações rotacionais de até 10 foram selecionados dentre os compostos com zero violações às regras de biodisponibilidade oral; em seguida, foi levada em consideração a classe dos compostos.

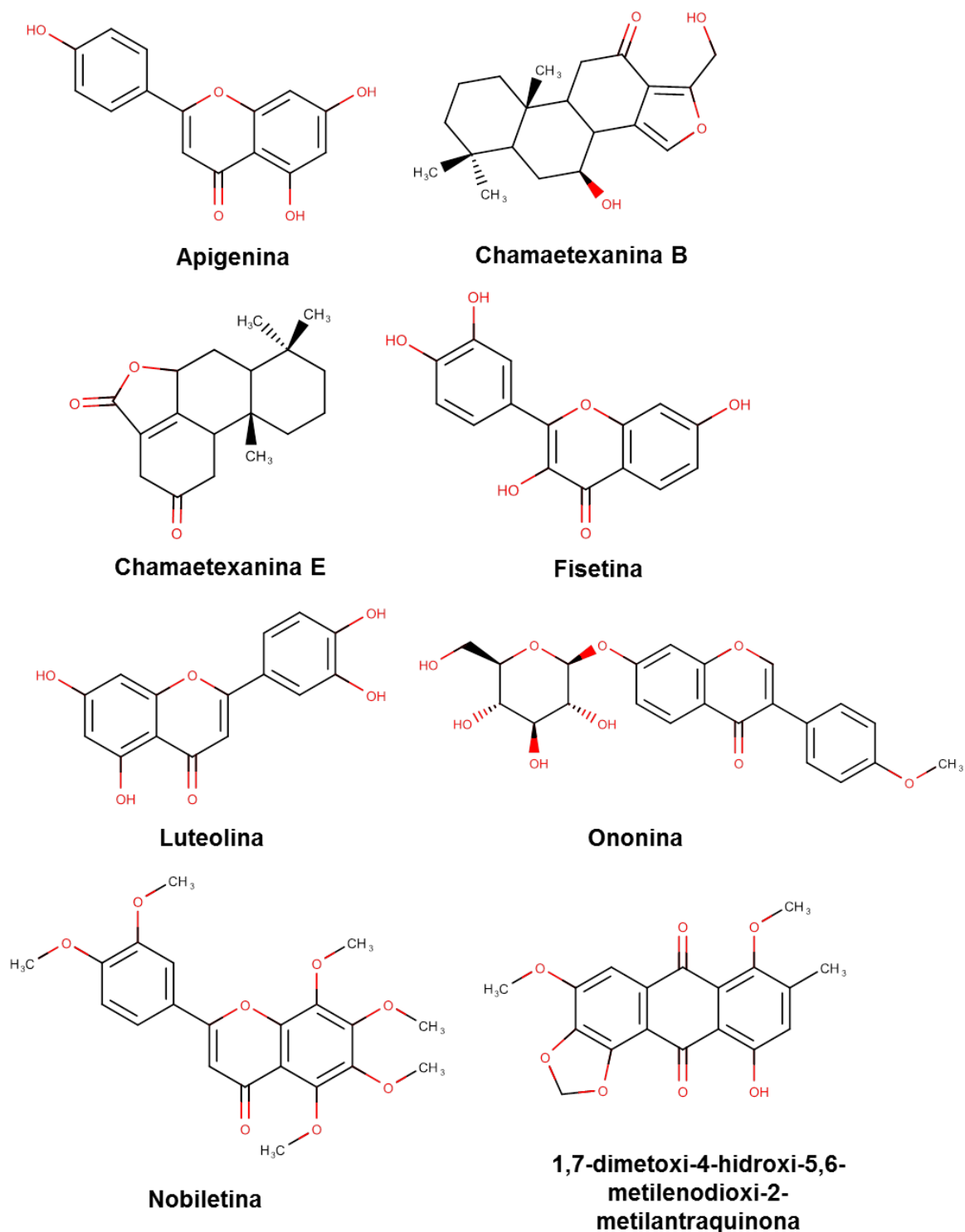
Os critérios aplicados levaram à seleção de seis compostos, sendo cinco flavonoides, apigenina, fisetina, luteolina, ononina e nobiletina, dois terpenoides, chamaetexanina B e E e uma antraquinona: 1,7-dimetoxi-4-hidroxi-5,6-metilenodioxi-2-metilantraquinona para estudos adicionais sobre sua interação com o DNA humano (PDB 1BNA). As propriedades dos compostos são apresentadas na Tabela 12 e as estruturas na Figura 18.

Os flavonoides selecionados fisetina, apigenina e luteolina são encontrados nas partes aéreas de *Chamaecrista nictitans* (MATEOS-MARTÍN *et al.*, 2014; QUIRÓS-GUERRERO *et al.*, 2019). O flavonoide ononina é encontrado nas raízes de *Chamaecrista duckeana* (LIMA *et al.*, 2022). Os terpenos chamaetexanin B e E foram identificados nas raízes de *Chamaecrista flexuosa* (BARBA *et al.*, 1992) e a antraquinona 1,7-dimetoxi-4-hidroxi-5,6-metilenodioxi-2-metilantraquinona, nas raízes e na casca da *Chamaecrista greggii* (BARBA *et al.*, 1994).

Adicionalmente, as propriedades do flavonoide nobiletina foram incluídas nos dados, pois ela foi escolhida como padrão de comparação com os compostos selecionados, devido a sua ação como agente antitumoral comprovada na literatura. De acordo com os achados, ela apresenta um IC₅₀ submicromolar para MDA-MB-468, de 0,2 µmol/L. Outra característica sobre a nobiletina é sua ação reversa em relação à multirresistência no tratamento do câncer (SURICHAN *et al.*, 2018). Assim, para ter um composto da mesma classe para comparação dos resultados, a nobiletina foi incluída no estudo computacional com *docking* molecular e simulações de dinâmica molecular. A atividade antitumoral dos compostos selecionados foi investigada por meio de um levantamento na literatura em busca dos valores de IC₅₀ dos compostos em ensaios com células tumorais. Dos resultados encontrados, destaca-se a atividade dos flavonoides contra células HepG2 de carcinoma, a apigenina, fisetina, luteolina e ononina tiveram um IC₅₀ de 19 µM (LI, 2020), 73 µM (REGARAJAN, 2020), 80,8 µM e 40,8 µM (CHEN, 2014), respectivamente.

A chamaetexanina B e E e 1,7-dimetoxi-4-hidroxi-5,6-metilenodioxo-2-metilantraquinona são compostos identificados somente em plantas do gênero *Chamaecrista* e de acordo com as pesquisas feitas na literatura, possuem relatos somente de identificação, mas não de aplicação medicinal. A plataforma SwissSimilarity® possibilita a comparação de uma estrutura molecular com uma grande quantidade de fármacos, compostos bioativos, *drug-like* e sintetizáveis em diversas bibliotecas de compostos como a Drugbank, ZINC e ChEMBL. Os resultados mostram estruturas semelhantes às da molécula inserida com um *score* de 0 a 1, em que 1 indica que os compostos são idênticos (ZOETE *et al*, 2016). A chamaetexanina B mostrou similaridade com *score* 0,81 com o diterpeno Cafestol, que possui atividade anti-inflamatória e também antitumoral (CHOI *et al*, 2011). A chamaetexanina E possui similaridade com o fármaco testolactona (*score* 0,94) que é um agente antineoplásico usado no tratamento avançado de câncer de mama de acordo com o Drugbank (WISHART *et al*, 2006). A antraquinona 1,7-dimetoxi-4-hidroxi-5,6-metilenodioxo-2-metilantraquinona não apresentou similaridade com moléculas com alguma atividade farmacológica. Os resultados mostram que, com exceção da antraquinona, todos os compostos selecionados apresentam potencial antitumoral seja por possuírem estrutura similar a compostos bioativos ou pelos resultados *in vitro*.

Figura 18. Representação estrutural dos compostos selecionados para estudos de *docking* e dinâmica molecular



Fonte: Elaborado pelo autor (MarvinSkech®).

Tabela 12. Propriedades físico-químicas dos compostos selecionados

Compound	MM	LHA	LHD	Log P	TPSA(Å ²)	LR	Fsp ³
Apigenina	270,24	3	5	1,89	90,90	1	0,00
Chamaetexanina B	332,43	2	4	2,66	70,67	1	0,75
Chamaetexanina E	314,42	0	3	2,79	89,81	1	0,70
Fisetina	286,24	4	6	1,50	111,13	1	0,00
Luteolina	286,24	4	6	1,86	111,13	1	0,00
Ononina	430,40	4	9	2,77	138,82	5	0,32
Nobiletina	402,39	0	8	3,96	85,59	7	0,29
1,7-dimetoxi-4-hidroxi-5,6-metilenodioxi-2-metilantraquinona	342,30	1	7	2,68	91,29	2	0,22

Fonte: Elaborado pelo autor. MM: Massa Molecular, g.mol⁻¹, LHA: ligação de hidrogênio aceitadora, LHD: ligação de hidrogênio doadora, log P: log do coeficiente de partição; RB: Ligações rotacionais; Fsp³: fração de carbonos sp³.

4.4.2 Propriedades ADME e drug-likeness score

As propriedades do ADME e o *score* de similaridade com fármacos (*drug-likeness score*) de todas as moléculas identificadas foram previstos, no entanto, apenas as propriedades dos compostos selecionados serão discutidas e estão exibidas na Tabela 13. As propriedades dos outros compostos são encontradas nas informações do anexo C. As propriedades ADME são um importante ponto de partida para a previsão da drogabilidade de um conjunto de compostos, pois essas propriedades estão relacionadas ao sucesso do acesso do medicamento ao sistema circulatório humano e sua eliminação (HOU *et al.*, 2007). Dentre os flavonoides selecionados, apenas a apigenina apresentou indicação positiva para a passagem da Barreira hematoencefálica (BBB), o que pode estar relacionado ao seu menor valor de TPSA (área de superfície topológica) em relação aos demais flavonoides. Este é um parâmetro importante para medicamentos que precisam acessar o sistema nervoso central (SNC) (LIPINSKI, 2004). Além disso, chamaetexanina B e E foram positivas para permeabilidade em BBB.

Tabela 13. Propriedades ADME dos compostos selecionados

Composto	BBB	GI(%)	P-gp	Inibidor CYP					Drug-likeness score
				1A2	2C19	2C9	2D6	3A4	
Apigenina	Sim	93,25	Não	Sim	Não	Não	Sim	Sim	0,39
Chamaetexanina B	Sim	96,46	Sim	Não	Não	Não	Sim	Não	0,29
Chamaetexanina E	Sim	100,00	Não	Não	Sim	Sim	Não	Não	-0,61
Fisetina	Não	83,75	Não	Sim	Não	Não	Sim	Sim	0,46
Luteolina	Não	81,13	Não	Não	Não	Não	Sim	Sim	0,38
Ononina	Não	61,69	Sim	Não	Não	Não	Não	Sim	-0,10
Nobiletina	Não	98,92	Não	Não	Não	Sim	Não	Sim	-0,23
1,7-dimetoxi-4-hidroxi-5,6-metilenodioxo-2-metilntraquinona	Não	97,39	Não	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	-0,30

Fonte: Elaborado pelo autor. BBB: *Blood Brain Barrier*; GI: absorção gastrointestinal

A absorção gastrointestinal (GI) é um parâmetro para adsorção e distribuição. Todos os compostos apresentaram alta absorção GI humana, o alto valor foi obtido para a nobiletina. A P-glicoproteína (P-gp) desempenha um papel de transportador de fármacos no SNC e está relacionada à resistência a fármacos de diversos fármacos, incluindo o antitumoral. A P-gp atua como uma bomba que controla a entrada e saída de substâncias da célula no SNC. As moléculas podem ser um inibidor, indutor ou substrato da P-gp. Apenas chamaetexanina B e ononina foram preditos como substrato P-gp, e os demais como não substrato. A enzima CYP afeta a biodisponibilidade de seus substratos, pois podem metabolizar as drogas antes de entrar no sistema circulatório (SRIVALLI *et al.*, 2012).

Todos os flavonoides selecionados se comportaram como inibidores da enzima CYP3A4, o que pode ser benéfico para sua biodisponibilidade oral. O metabolismo e a excreção dos compostos no sistema circulatório foram atribuídos à inibição das enzimas CYP. O citocromo (CYP) P450 é responsável pela fase I das reações metabólicas. As CYP1A2, 2C19, 2C9, 2D6, 3A4 são as principais enzimas responsáveis pelo metabolismo dos fármacos no organismo. Dentre os flavonoides selecionados, a fisetina apresentou o maior *drug-likeness score*, 0,46; e 15,16-Bis-nor-12oxocassan-8 α H,17-olide, o mais baixo, -0,61.

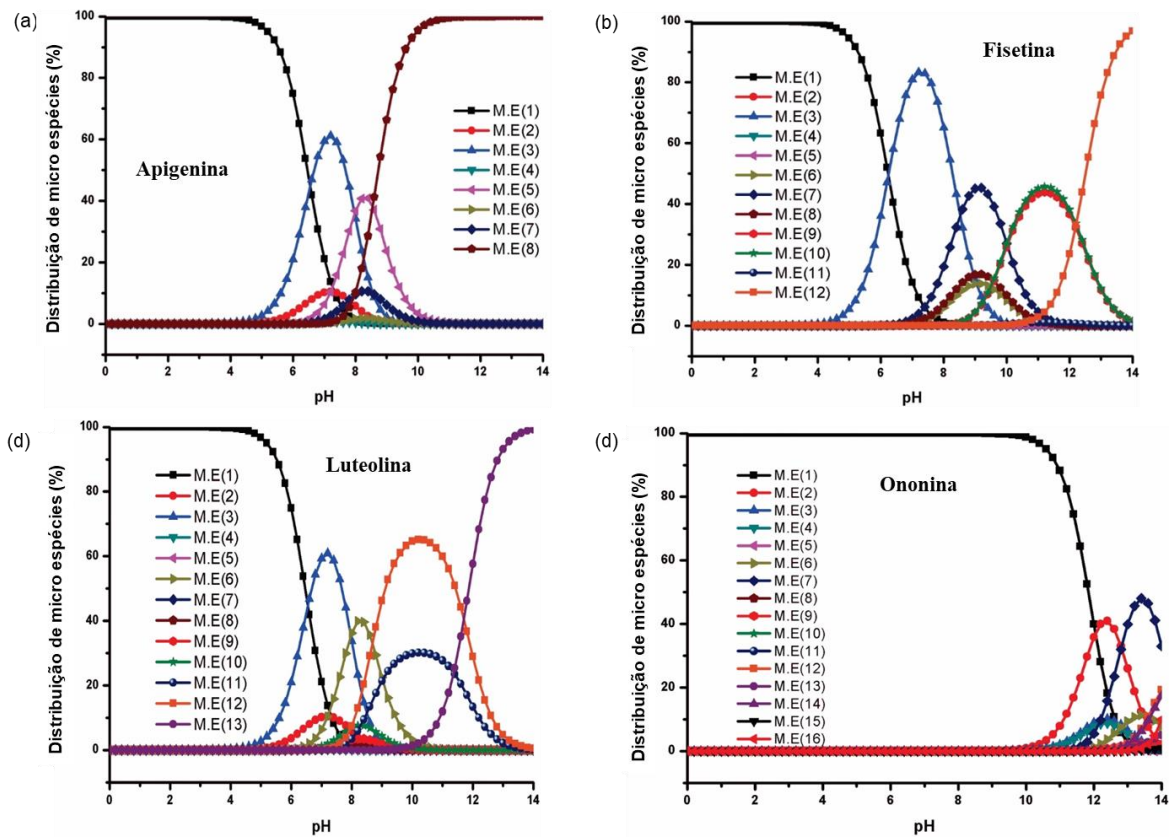
4.4.3 Avaliação do potencial antitumoral dos flavonoides por molecular docking e dinâmica molecular

A ligação do DNA com moléculas pequenas consiste principalmente da intercalação, *groove binding* e ligação covalente. Na intercalação as moléculas se inserem entre os pares de base na dupla hélice do DNA; essa é uma interação do tipo não-covalente que envolve moléculas mais planas e o complexo é estabilizado por ligações hidrofóbicas e de Van der Waals. No *minor* ou *major groove binding* a interação ocorre fora da hélice e ao longo da estrutura do DNA por meio de interações de Van der Waals e ligações de hidrogênio (PINDUR *et al.*, 2005). Muitos fármacos anticâncer têm como alvo o DNA na inibição do crescimento de tumores. As células tumorais se multiplicam mais rapidamente que a células normais, ao interagir com o DNA de células com mutação, as pequenas moléculas podem impedir sua replicação, transcrição e transdução (GUROVA, 2009). Para avaliar o potencial antitumoral de um composto é importante entender como ele interage e se liga o DNA e age como inibidor.

4.4.3.1 Distribuição de espécies de acordo com o pH

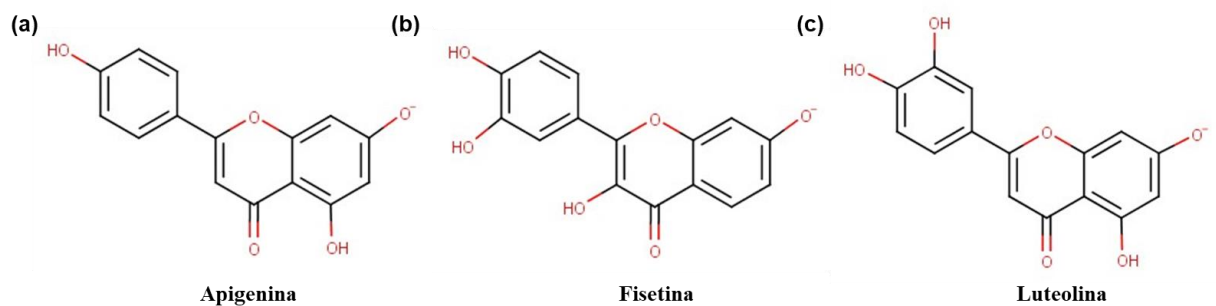
As Figura 17 mostra a distribuição de micro espécies dos ligantes em relação à faixa de pH. No pH fisiológico (7,4), as micro espécies 3 (Figura 17c, 3 (Figura B6c), 3 (Figura B7c) apresentaram os maiores percentuais na distribuição das micro espécies, com valores de 62%, 90%, 65% para os ligantes apigenina, fisetina e luteolina respectivamente. A ononina não está protonada no pH 7,4, somente em pH acima de 10 estão presentes outros estados de protonação. Os ligantes nobiletina, chamaetexanin B e E e 1,7-dimetoxi-4-hidroxi-5,6-metilenodioxi-2-metilantraquinona apresentam apenas um estado de protonação; não possui micro espécies de distribuição. Portanto, as microespécies com as maiores porcentagens são apresentadas na Figura 20 para apigenina, fisetin e luteolina e foram selecionadas para simulações de *docking* molecular.

Figura 19. Distribuição das espécies (%) no pH de 1 a 14 para (a) Apigenina (b) Fisetina (c) Luteolina (d) Ononina. ME: Espécies



Fonte: Elaborado pelo autor (Marvin software)

Figura 20. Estruturas das espécies protonadas usadas nas simulações: (a) Apigenina (b) Fisetina (c) Luteolina

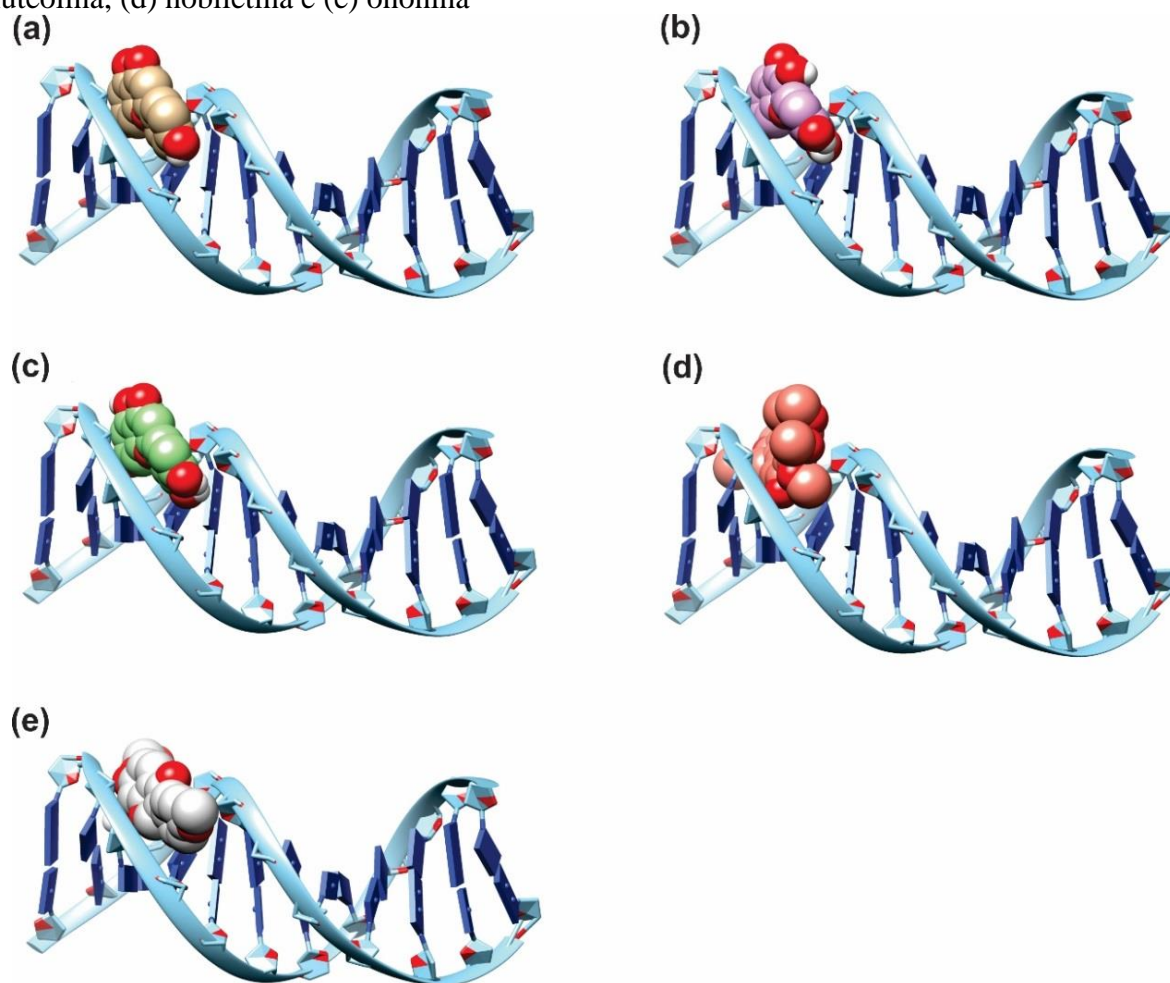


Fonte: Elaborado pelo autor.

4.4.4 Docking molecular e dinâmica molecular

As simulações de *docking* molecular foram realizadas para obter os menores valores de energia de ligação livre (ΔG) e os complexos formados entre receptor-ligante (Figura B10), em que foram o ponto inicial para simulações de dinâmica molecular. A Tabela 14 mostra os valores (ΔG) entre o receptor B-DNA obtidos neste ensaio. No entanto, apenas os flavonoides (ligantes apigenina, fisetina, luteolina, nobiletina e ononina) foram selecionados para as simulações de dinâmica molecular. As melhores poses dos compostos selecionados para os estudos de MD estão na Figura 21, em que pode ser visto que as pequenas moléculas interagem com o DNA por *groove binding*.

Figura 21. Melhores poses para o B-DNA com os ligantes (a) apigenina, (b) fisetina, (c) luteolina, (d) nobiletina e (e) ononina



Fonte: Elaborado pelo autor.

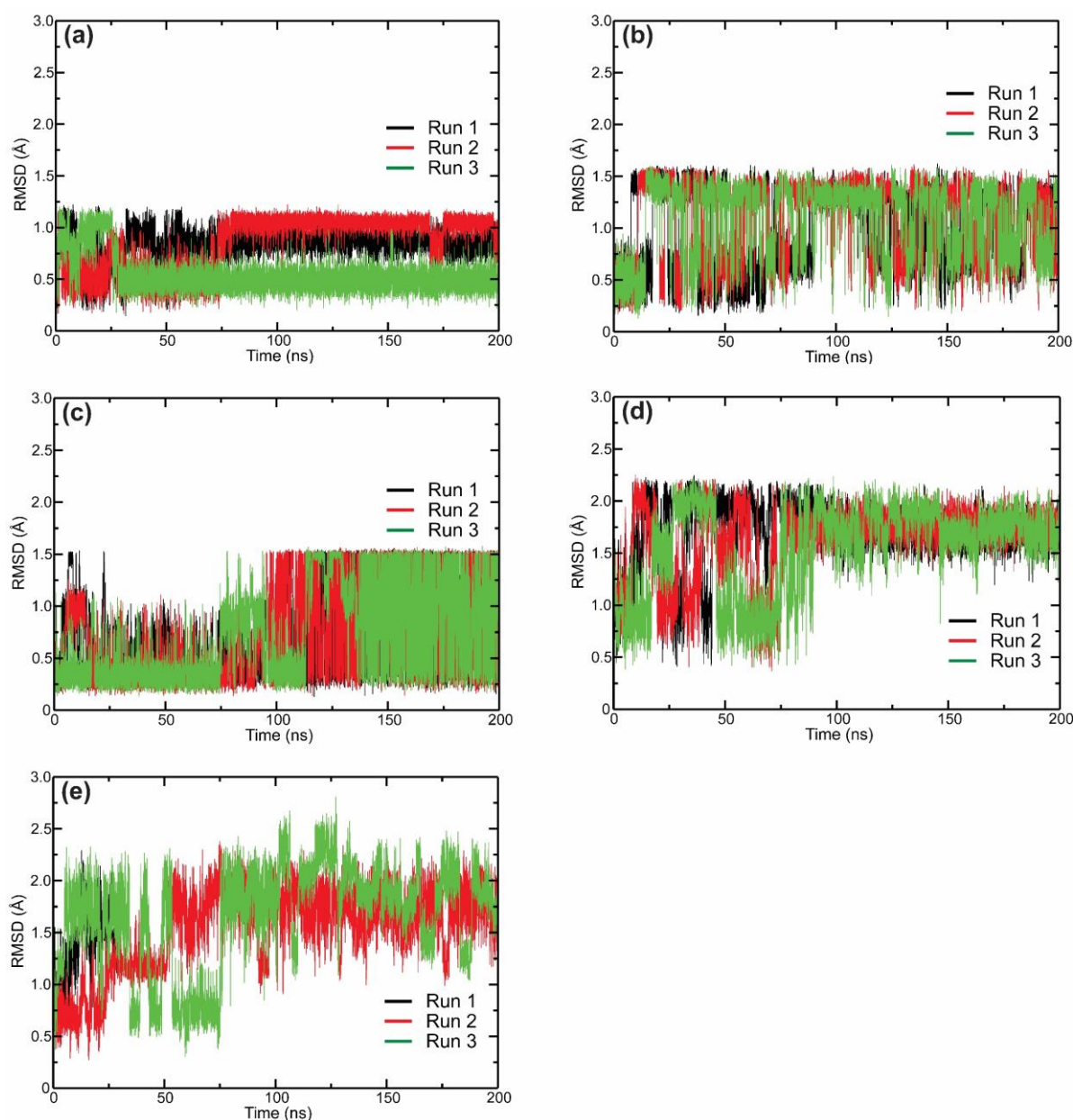
Tabela 14. Os menores valores de energia de ligação livre (ΔG) entre o receptor de DNA com os compostos selecionados

Ligantes	ΔG (kcal.mol⁻¹)
Apigenina	-8.0
Chamaetexanin B	-8.1
Chamaetexanin E	-7.8
Fisetina	-8.4
Luteolina	-7.5
Ononina	-9.3
Nobiletina	-8.3
1,7-dimetoxi-4-hidróxi-5,6-metilenodioxi-2-metilantraquinona	-8.4

Fonte: Elaborado pelo autor.

As simulações de dinâmica molecular foram realizadas para analisar o intervalo de tempo em que os complexos receptor-ligante atingiram o equilíbrio. A Figura 22 mostra o RMSD entre o receptor B-DNA com ligantes apigenina (Figura 22a), fisetina (Figura 22b), luteolina (Figura 22c), ononina (Figura 22d) e nobiletina (Figura 22e), respectivamente. Os gráfico de RMSD expressa o equilíbrio do complexo formado em função do tempo de simulação do sistema. Durante o tempo de simulação ocorrem variações na distância entre os ligantes e nas suas conformações, as linhas no gráfico mostram o quanto as moléculas mudaram da sua posição inicial até atingir o equilíbrio. Ambos os complexos (DNA-apigenina e DNA-ononina) atingiram o equilíbrio em 75-200 ns nas três réplicas. Além disso, o DNA-fisetina, o DNA-luteolina e o DNA-nobiletina atingiram o equilíbrio em 125-200 ns, 100-200 ns e 90-200 ns, respectivamente. Portanto, a análise IPE foi realizada apenas no intervalo de tempo em que os complexos acima atingiram o equilíbrio.

Figura 22. Determinação RMSD para (a) DNA-apigenina (b) DNA-fisetina (c) DNA-Luteolina (d) DNA-nobiletina (e) DNA-ononina. As simulações foram realizadas em triplicata (preto, vermelho e verde)

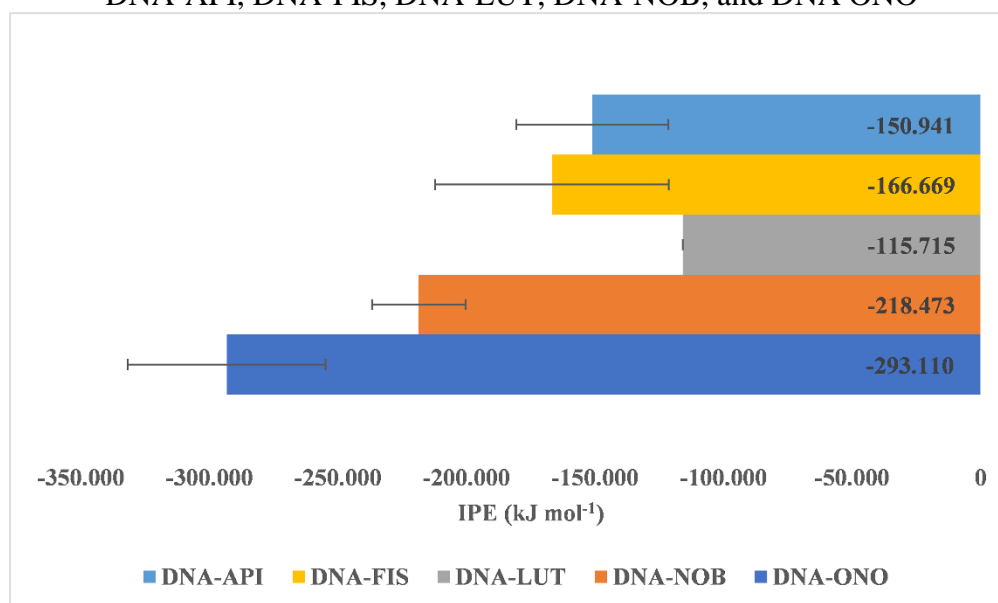


Fonte: Elaborado pelo autor.

Nas simulações de dinâmica molecular, os modos de ligação entre os flavonoides e DNA são detalhados. A análise de potencial de interação de energia (IPE) foi obtida pela soma das energias de curto alcance de Lennard-Jones e Coulomb entre o receptor B-DNA e os ligantes. Os complexos DNA-apigenina e DNA-fisetina mostraram um valor de IPE similares de $-159,1470 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ ($\pm 32,9524$) e $-162,5420 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ ($\pm 13,5260$), respectivamente. Além disso, os complexos DNA-nobiletina e DNA-ononina registraram um alto valor de IPE de -

248,7460 kJ.mol⁻¹ (\pm 43.7489) e -249,3490 kJ.mol⁻¹ (\pm 33,7480). O menor valor de IPE é o da interação da Luteolina com o receptor DNA, -61,1072 kJ.mol⁻¹ (\pm 32,3323). A análise de IPE indica uma forte interação da nobiletina e ononina com o receptor DNA, indicando que esses flavonoides podem se tornar potenciais inibidores da replicação de DNA tumoral. As principais interações entre o B-DNA e os ligantes são registradas no último frame de simulação (200 ns), exposto na Figura 24.

Figura 23. Energia Potencial de Interação (IPE), com desvio padrão, presente nos complexos DNA-API, DNA-FIS, DNA-LUT, DNA-NOB, and DNA ONO



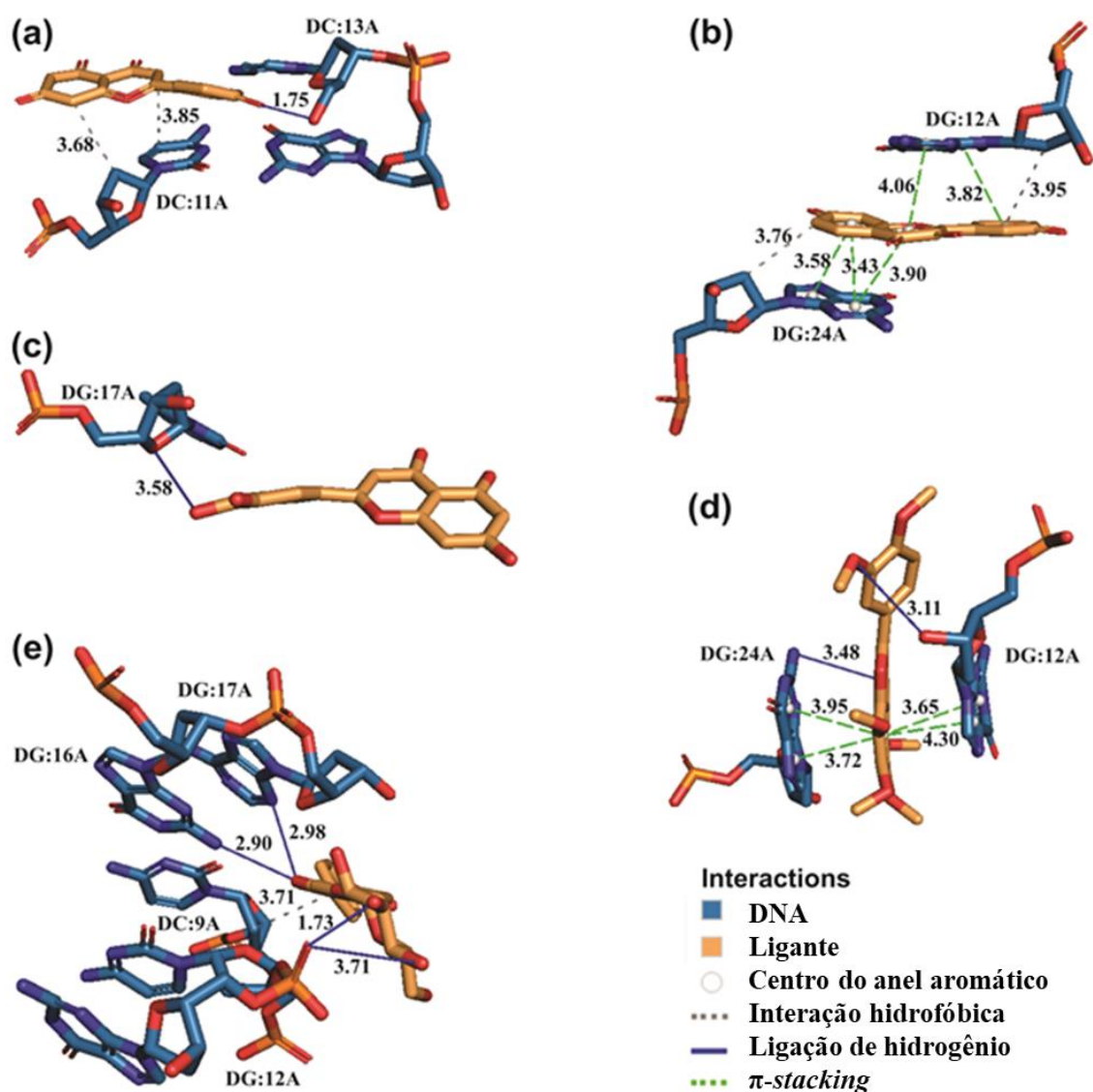
Fonte: Elaborado pelo autor.

No complexo DNA-API, a apigenina apresenta duas ligações hidrofóbicas com o nucleotídeo DC:11 (3,68 Å e 3,85 Å) e uma ligação de hidrogênio (1,75 Å) com o nucleotídeo DC:13^a. No complexo DNA-FIS, sete interações estão presentes, duas π -stacking (4,06 Å e 3,82 Å) e uma hidrofóbica (3,95 Å) com o nucleotídeo DG:12A. Para o nucleotídeo DG24A, três π -stacking (3,58 Å, 3,43 Å e 3,90 Å) e uma interação hidrofóbica (3,76 Å) foram registradas. Para o complexo com a luteolina, uma ligação de hidrogênio (3,58 Å) com o nucleotídeo DG:17A foi a única interação observada, o que explica o baixo valor do IPE para o complexo em comparação com os outros complexos.

No complexo DNA-NOB, o ligante nobiletina interage com o nucleotídeo DG:12A por meio de dois π -stacking (3,65 Å e 4,30 Å) e uma ligação de hidrogênio (3,11 Å). Ademais, para o nucleotídeo DG:24A, dois π -stacking (3,95 Å and 3,72 Å) e uma ligação de hidrogênio (3,48 Å) foram registradas. Cinco interações para o complexo DNA-ONO foram detectadas: quatro ligações de hidrogênio entre os ligantes ononin e os nucleotídeos DG:17A,

DG:16A e DG:12A com distâncias de 2.98 Å, 2.90 Å, 1.73 Å, e 3.71 Å, respectivamente; e uma interação hidrofóbica com o nucleotídeo DC:9A (3,71 Å). Os complexos DNA-NOB e DNA-ONO apresentam duas e quatro ligações de hidrogênio, respectivamente. Essas ligações de hidrogênio contribuem de 11 a 61 kJ mol⁻¹ na interação IPE, o que corrobora com o alto valor de IPE para esses complexos.

Figura 24. Principais interações nos complexos (a) DNA-Apigenina (b) DNA-Fisetina (c) DNA-Luteolina (d) DNA-Nobiletina e (e) DNA-Ononina



Fonte: Elaborado pelo autor.

Estes resultados foram submetidos e publicados na revista *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, set, 2022, DOI 10.1080/07391102.2022.2124455 (Anexo D).

5 CONCLUSÃO

O presente estudo combinou as técnicas da fitoquímica clássica e desreplicação com ferramentas de bioinformática com o objetivo de buscar entre compostos presentes no gêneros *Senna* e *Chamaecrista* potenciais *hits* e *leads* com efeito antitumoral. Essa investigação levou a identificação e isolamento de compostos nas partes da *Senna pendula* e *Senna cearensis*, demonstrando a rica composição dessas espécies; a identificação por revisão de literatura de compostos presentes em espécies do gênero *Chamaecrista* levou a construção de um banco de dados de 164 moléculas, das quais 39 % têm propriedades que não violam a regra de Lipinski para fármacos orais. As simulações de *docking* e dinâmica molecular possibilitaram a investigação da interação de 6 compostos presentes no gênero *Chamaecrista*, alguns desses também são encontrados no gênero *Senna*, com o DNA.

Os extratos etanólicos das folhas, frutos, flores e talos da *Senna cearensis*, como também das folhas da *Senna pendula* foram estudados quanto à sua composição química, sendo notados 28 compostos, são eles flavonoides livres, catequinas, procianidinas, proantocianidinas e flavonoides glicosilados. Do extrato etanólico das folhas da *Senna pendula*, foram isolados dois compostos que foram identificados como luteolina-7-*O*- β -rutinosídeo e entcassiaflavan-(4 β →8)-epigalocatequina. Ambas as espécies *Senna pendula* e *Senna cearensis* Afr. Fern. são plantas pouco exploradas como fonte de compostos bioativos. O efeito citotóxico dos extratos foi testado utilizando três linhas de células tumorais, com bons resultados para os extratos da *Senna cearensis*, principalmente os frutos e folhas. O extrato da *Senna pendula* e o composto isolado luteolina-7-*O*- β -rutinosídeo não apresentaram atividade citotóxica significativa. O estudo dessas plantas ainda pouco exploradas enriquece as informações a respeito do seu gênero e amplia a aplicabilidade das espécies, não limitando os estudos apenas a espécies conhecidas por seu uso medicinal.

Uma revisão da literatura sobre os compostos encontrados em sete espécies do gênero *Chamaecrista* de 1996 a 2022 possibilitou a identificação de 164 compostos de várias classes. As propriedades *drug-like* desses compostos foram descritas e analisadas de acordo com as regras de Lipinski e Veber para drogas orais. Para alguns compostos, encontrados apenas em plantas do gênero *Chamaecrista*, chamaetexanina B e E e 1,7-dimetóxi-4-hidróxi-5,6-metilenodióxi-2-metilantraquinona, esta é a primeira descrição de suas propriedades farmacocinéticas e estudo de *docking* molecular. As simulações moleculares dinâmicas dos complexos flavonoides-DNA mostraram que os flavonoides interagiram com o DNA por ligações de hidrogênio, interação hidrofóbica e emparelhamento π . O complexo ononina-

DNA (Energia de interação: $-291,3490 \text{ kJ mol}^{-1}$) teve a melhor interação dentre os flavonoides estudados. O trabalho mostrou a possível formação de um complexo entre produtos naturais e DNA. As propriedades calculadas dos compostos selecionados forneceram informações importantes sobre o caráter farmacológico dos compostos naturais encontrados em espécies de *Chamaecrista*.

REFERÊNCIAS

- AGRAHARAM, G.; GIRIGOSWAMI, A.; GIRIGOSWAMI, K. Myricetin: a Multifunctional Flavonol in Biomedicine. **Current Pharmacology Reports**, v. 8, n. 1, p. 48–61, 10 jan. 2022.
- ALSHEHRI, M. *et al.* A Review of Recent Studies on the Antioxidant and Anti-Infectious Properties of *Senna* Plants. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2022, p. 1-38, 2022.
- AMORIM-CARMO, B. *et al.* Potent and broad-spectrum antimicrobial activity of analogs from the scorpion peptide Stigmurin. **International Journal of Molecular Sciences**, v.20, n. 3, p. 623–644, 2019.
- ARON, A.T. *et al.* Reproducible molecular networking of untargeted mass spectrometry data using GNPS. **Nature Protocols**, v. 15, p. 1954–1991, 2020.
- ASIAMA, I. *et al.* Applications of molecular *docking* in natural products-based drug discovery. **Scientific African**, v. 20, 2023.
- BARBA, B. *et al.* Unusual Cassanes from a *Chamaecrista* species. **Tetrahedron**, v. 48, n.23, p.4725-4732, 1992.
- BARBA, B.; DÍAZ, J. G.; HERZ, W. Cassanes and anthraquinones from *Chamaecrista greggii*. **Prytochemistry**, v. 37, n.3, p. 837-845, 1994.
- BERMAN, H. M. The protein data bank. **Acta Crystallographica. Section D, Biological Crystallography**, v. 58, p. 899–907, 2002.
- BERRIDGE, M. V., *et al.* The Biochemical and Cellular Basis of Cell Proliferation Assays that Use Tetrazolium Salts. **Biochemica**, 4: 14-19, 1996.
- CAMPOS, J. F. *et al.* The Chemical Profile of *Senna velutina* Leaves and Their Antioxidant and Cytotoxic Effects. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, p. 1-15, 2016.
- CHOI, M. J. *et al.* Cafestol, a coffee-specific diterpene, induces apoptosis in renal carcinoma Caki cells through down-regulation of anti-apoptotic proteins and Akt phosphorylation. **Chemico-Biological Interactions**. v. 190, n. 2-3, 2011.
- DAINA, A.; MICHIELIN, O.; ZOETE, V. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, 2017.
- DREȚCANU, G. *et al.* Chemical Structure, Sources and Role of Bioactive Flavonoids in Cancer Prevention: A Review. **Plants**, v. 11, n. 9, p. 1117, 2022.
- DULSAT, J. *et al.* Evaluation of Free Online ADMET Tools for Academic or Small Biotech Environments. **Molecules**, v. 28, n.2, 2023.

FERMINI, B.; COYNE, S.; COYNE, K. Clinical Trials in a Dish: A Perspective on the Coming Revolution in Drug Development. **SLAS Discovery**, v. 23, n. 8, p. 765-776, 2018.

FRANCA, M.; CAVALHEIRO, A.; SILVA, M. A Comprehensive LC-DAD-QTOF-MS Method for Dereplication of Bioactive Compounds in *Senna* Extracts. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 31, n. 1, p. 32-39, 2021.

FRANCA, M.A. et al. Flavonoids composition, antioxidant, anticholinesterase, and cytotoxic activities of flowers extract of *Senna cearensis* Afr. Fern. **Natural Product Research**, 2022.

FRIESNER, R.A. *et al.* Extra Precision Glide: Docking and Scoring Incorporating a Model of Hydrophobic Enclosure for Protein-Ligand Complexes. **J. Med. Chem.**, v. 49, p. 6177–6196, 2006.

FRISCH, M. J.; TRUCKS, G. W.; SCHLEGEL, H. B. Gaussian 16 (Revision C.01). Gaussian, Inc, 2016.

GOMES, P. *et al.* Constituents of *Chamaecrista diphylla* (L.) Greene Leaves with Potent Antioxidant Capacity: A Feature-Based Molecular Network Dereplication Approach. **Pharmaceutics**, v. 13, n. 5, p. 681, 2021.

GONTIJO, V.; DOS SANTOS, M.; VIEGAS JR., C. Biological and Chemical Aspects of Natural Biflavonoids from Plants: A Brief Review. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 17, n. 10, 2017.

GROSDIDIER A.; ZOETE, V.; MICHELIN, O. SwissDock, a protein-small molecule docking web service based on EADock DSS. **Nucleic Acids Res**, n.39. 2011.

GU, L. *et al.* Liquid chromatographic/electrospray ionization mass spectrometric studies of proanthocyanidins in foods. **Journal of Mass Spectrometry**, v. 38, n. 12, p. 1272-1280, 2003.

GUMISIRIZA, H. et al. Medicinal plants used to treat "African" diseases by the local communities of Bwambara sub-county in Rukungiri District, Western Uganda. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 268, p. 113578, 2021.

GUROVA, K. New hopes from old drugs: revisiting DNA-binding small molecules as anticancer agents. **Future Onco**. v. 5, n.10, 2009.

HE, X.; YANG, F.; HUANG, X. Proceedings of Chemistry, Pharmacology, Pharmacokinetics and Synthesis of Biflavonoids. **Molecules**, v. 26, n. 19, p. 6088, 2021.

HOLLINGSWORTH, S.A; DROR, R.O. Molecular dynamics simulation for all. **Neuron**. V. 99, n.6, p.1129-1143, 2018.

HOLT, P. A.; CHAIRES, J. B.; TRENT, J. O. Molecular *docking* of intercalators and groove-binders to nucleic acids using autodock and surflex. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 48, n. 8, p.1602–1615, 2008.

HOOVER, W. G. Canonical dynamics: Equilibrium phase-space distributions. **Physical Review. A, General Physics**, v. 31, n. 3, p. 1695–1697, 1985.

HORAI H, *et al.* MassBank: a public repository for sharing mass spectral data for life sciences. **J Mass Spectrom.** v. 45, n. 7, p. 703-14, 2010.

HOU, T. *et al.* ADME Evaluation in Drug Discovery. Part 6. Can Oral Bioavailability in Humans Be Effectively Predicted by Simple Molecular Property-Based Rules?. **ChemInform**, v. 38, n. 24, 2007.

HUANG, J. *et al.* CHARMM36m: an improved force field for folded and intrinsically disordered proteins. **Nature Method**, v. 14, p. 71–73, 2017.

IRWIN, J.J. *et al.* ZINC20—A Free Ultralarge-Scale Chemical Database for Ligand Discovery. **J. Chem. Inf. Model.**, v. 60, n. 12, p. 6065–6073, 2020.

JARAMILLO-CARMONA, S.; LOPEZ, S.; ABIA, R. Combination of Quercetin and Kaempferol enhances *in vitro* Cytotoxicity on Human Colon Cancer (HCT-116) Cells. **Records of Natural Products**, v. 8, n.3, 262-271, 2014.

JONES, G. *et al.* Development and validation of a genetic algorithm for flexible docking. **Journal of Molecular Biology.**, v. 267, n. 3, p.727-748.

JORGENSEN, W. L. *et al.* Comparison of simple potential functions for simulating liquid water. **Journal of Chemical Physics**, 79(2), 926–935, 1983.

KIM S. *et al.* PubChem 2023 update. **Nucleic Acids Res.**, 2023.

KIM, N.M. *et al.* Isolation of Luteolin 7-O-rutinoside and Esculetin with Potential Antioxidant Activity from the Aerial Parts of *Artemisia montana*. **Arch Pharm Res**, v. 23, n.3, p.237-239, 2000.

LEESON, P.; SPRINGTHORPE, B. The influence of drug-like concepts on decision-making in medicinal chemistry. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 6, n. 11, p. 881-890, 2007.

LIMA, D. *et al.* Metabolic profiling and cytotoxic activity of methanol extracts from *Chamaecrista duckeana* (P. BEZERRA & A. FERN.) H. S. IRWIN & BARNEBY (LEGUMINOSAE, CAESALPINIOIDEAE). **Química Nova**, v. 45, n.7, p. 803-806, 2022.

LIPINSKI, C. *et al.* Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 46, n. 1-3, p. 3-26, 2001.

LIPINSKI, C. Lead- and drug-like compounds: the rule-of-five revolution. **Drug Discovery Today Technologies**, 1(4), 337–341, 2004.

LOPES, R.C.V.; CAMPOS, A.M.; CRAVEIRO, A.A. Essential Oil Components of *Chamaecrista duckeana* Roots. **J. Essent. Oil Res**, v. 5, p. 209-210, 1993.

- LOVERING, F.; BIKKER, J.; HUMBLET, C. Escape from flatland: increasing saturation as an approach to improving clinical success. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 52, n.21, p. 6752–6756. 2009.
- MA, D.L.; CHAN, D.S.H.; LEUNG, C.H. Molecular *docking* for virtual screening of natural product databases. **Chem. Sci.**, v. 2, p. 1656–1665, 2011.
- MACEDO, E.; SILVA, J.; SILVA, M. Chemodiversity and Biopharmacological Properties of Native Species of *Senna* in Northeastern Brazil. **Revista Virtual de Química**, v. 8, n. 1, 2016.
- MAIA, I. *et al.* Characterization and Quantitation of Polyphenolic Compounds in *Senna macranthera* var *pudibunda* From the Northeast of Brazil. **Natural Product Communications**, v. 14, n. 7, 2019.
- MALANDRAKI-MILLER, S.; RILEY, P. Use of artificial intelligence to enhance phenotypic drug discovery. **Drug Discovery Today**, v. 26, n. 4, p. 887-901, 2021.
- MATEOS-MARTÍN, M. *et al.* Identification of polyphenols from antiviral *Chamaecrista nictitans* extract using high-resolution LC–ESI–MS/MS. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 406, n. 22, p. 5501-5506, 2014.
- MEDUGU, N. A. *et al.* Anti-epileptic potentials of the partitioned fractions of *Chamaecrista mimosoides*. **International Journal of Pharmacology and Toxicology**, v. 8, n. 1, p. 89, 2020.
- MENNUCCI, B.; CANCÈS, E.; TOMASI, J. Evaluation of solvent effects in isotropic and anisotropic dielectrics and in ionic solutions with an unified integral equation method: theoretical bases, computational implementation, and numerical applications. **The Journal of Physical Chemistry B**, v.101, n. 49, p. 10506–10517, 1997.
- MOLECULAR OPERATING ENVIRONMENT (MOE), 2022.02 **Chemical Computing Group ULC**, Canada: Montreal, 2023.
- MOLINSPIRATION. Calculation of Molecular Properties and Bioactivity Score. Disponível em: <https://www.molinspiration.com/cgi-bin/properties>. Acesso em: 24 de set. de 2022.
- MOLSOFT MOLECULAS *IN SILICO*. Drug-Likeness and molecular property prediction. Disponível em: <https://molsoft.com/mprop/>. Acesso em: 24 de set. de 2022.
- MONTEIRO, J. A. **ESTUDO QUÍMICO E FARMACOLÓGICO *in vitro* E *in silico* DE *Senna* SPP. NATIVAS DO NORDESTE: *Senna cana* e *Senna pendula***. 2018. Tese de doutorado- Centro de Ciências, Departamento de Química da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Ceará, 2018.
- MONTEIRO, J. A. *et al.* Bioactivity and Toxicity of *Senna cana* and *Senna pendula* Extracts. **Biochemistry Research International**, p. 1-10, 2018.
- MOOLMAN, C. *et al.* An Update on Development of Small-Molecule Plasmodial Kinase Inhibitors. **Molecules**, v. 25, 2020.

- MORRIS, G. M. *et al.* Software news and updates AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated *docking* with selective receptor flexibility. **Journal of Computational Chemistry**, v. 30, n. 16, p. 2785–2791, 2009.
- MOURA, P. *et al.* Structural Elucidation of an Atropisomeric Entcassiflavan-(4 β →8)-Epicatechin Isolated from *Dalbergia monetaria* L.f. Based on NMR and ECD Calculations in Comparison to Experimental Data. **Molecules**, v. 27, n. 8, p. 2512, 2022.
- NAMBA, A.M.; SILVA, V.B.; SILVA, H.T.P. Dinâmica molecular: teoria e aplicações em planejamento de fármacos. **Eclética**, v. 33, n. 4, 2008.
- NASCIMENTO, M. *et al.* Antimicrobial and cytotoxic activities of *Senna* and *Cassia* species (Fabaceae) extracts. **Industrial Crops and Products**, v. 148, p. 112081, 2020.
- PANAT, N.A. *et al.* Troxerutin, a natural flavonoid binds to DNA minor groove and enhances cancer cell killing in response to radiation. **Chemico-Biological Interactions**, v. 251, p. 34–44, 2016.
- PILON, A. C. *et al.* Redes Moleculares: uma análise sobre anotações e descoberta de novos ativos. **Química Nova**, v. 44, n. 9, p. 1168–1179, 2021.
- PINDUR, U.; JANSEN, M.; LEMSTER, T. Advances in DNA-Ligands with Groove Binding, Intercalating and/or Alkylating Activity: Chemistry, DNA-Binding and Biology. **Current Medicinal Chemistry**, v. 12, n. 24, p. 2805-2847, 2005.
- PIRES, D.; BLUNDELL, T.; ASCHER, D. pkCSM: Predicting Small-Molecule Pharmacokinetic and Toxicity Properties Using Graph-Based Signatures. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 58, n. 9, p. 4066-4072, 2015.
- QUIRÓS-GUERRERO, L. *et al.* Phenolic variation among *Chamaecrista nictitans* subspecies and varieties revealed through UPLC-ESI(-)-MS/MS chemical fingerprinting. **Metabolomics**, v. 15, n. 2, 2019.
- RAWA, M. A. *et al.* Anti-cholinesterase potential of diverse botanical families from Malaysia: Evaluation of crude extracts and fractions from liquid-liquid extraction and acid-base fractionation. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 245, p. 112160, 2019.
- RISS, T. L. *et al.* Cell Viability Assays. In: **Assay Guidance Manual**. Bethesda: Eli Lilly & Company and the National Center for Advancing Translational Sciences. Updated jul 1, 2016.
- RODRIGUES, T. *et al.* Counting on natural products for drug design. **Nature Chemistry**, v. 8, n. 6, p. 531-541, 2016.
- SCHARBERT, S.; HOLZMANN, N.; HOFMANN, T. Identification of the Astringent Taste Compounds in Black Tea Infusions by Combining Instrumental Analysis and Human Bioresponse. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 52, p. 3498-3508., 2004.
- SOBEH, M. *et al.* *Senna singueana*: Antioxidant, Hepatoprotective, Antiapoptotic Properties and Phytochemical Profiling of a Methanol Bark Extract. **Molecules**, v. 22, n. 1502, 2017.

SONG, C.; LIM, S.; TONG, J. Recent advances in computer-aided drug design. **Briefings in Bioinformatics**, v. 10, n. 5, p. 579-591, 2009.

SRIVALLI, K.; LAKSHMI, P. Overview of P-glycoprotein inhibitors: a rational outlook. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 48, n. 3, p. 353-367, 2012.

SUBASH-BABU, P. et al. Luteolin-7-O-rutinoside Protects RIN-5F Cells from High-Glucose-Induced Toxicity, Improves Glucose Homeostasis in L6 Myotubes, and Prevents Onset of Type 2 Diabetes. **Metabolites**, v. 13, p.269, 2023.

SURICHAN, S. *et al.* Nobiletin bioactivation in MDA-MB-468 breast cancer cells by cytochrome P450 CYP1 enzymes. **Food and Chemical Toxicology: An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association**, v. 113, p. 228–235, 2018.

TAEYE, C.D.; KANKOLONGO, M.; COLLIN, S. Occurrence and Antioxidant Activity of C1 Degradation Products in Cocoa. **Foods**, v.6, n.3, 2017.

TALHAOUI, N. *et al.* Determination of phenolic compounds of ‘Sikitita’ olive leaves by HPLC-DAD-TOF-MS. Comparison with its parents ‘Arbequina’ and ‘Picual’ olive leaves. **LWT - Food Science and Technology**, v. 58, n. 1, p. 28-34, 2014.

TANGAVELOU, A.C. et al. Phytochemical Analysis in the Leaves of *Chamaecrista nigricans* (Leguminosae). **Pharmaceutica Analytica Acta**, v. 09, n. 03, 2018.

TIAN, S. et al. ADME Evaluation in Drug Discovery. 9. Prediction of Oral Bioavailability in Humans Based on Molecular Properties and Structural Fingerprints. **Molecular Pharmaceutics**, v. 8, n. 3, p. 841-851, 2011.

TORQUATO, I. et al. Polyphenolic Composition and Allelopathic Potential of *Senna cearensis* Afr. Fern. (Fabaceae). **Research, Society and Development**, v. 9, n. 8, 2020.

TRIPATHI, N. *et al.* Virtual screening and molecular simulation study of natural products database for lead identification of novel coronavirus main protease inhibitors. **Journal of biomolecular structure and dynamics**, v. 40, n.8, p. 3655-3667, 2022.

VALLI, M. *et al.* Development of a Natural Products Database from the Biodiversity of Brazil. **Journal of Natural Products**, 76(3), 439-444, 2013.

VAN DER SPOEL, D. *et al.* GROMACS: Fast, flexible, and free. **Journal of Computational Chemistry**, v. 26, n. 16, p. 1701–1718, 2005.

VEBER, D. et al. Molecular Properties That Influence the Oral Bioavailability of Drug Candidates. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, n. 12, p. 2615-2623, 2002.

VU THANH, B. et al. Anti-inflammatory effects of two new stilbene-phenylpropanoid derivatives from *Chamaecrista pumila*. **Phytochemistry Letters**, v. 51, p. 34-38, 2022.

WANG, M. *et al.* Analysis of Antioxidative Phenolic Compounds in Artichoke (*Cynara scolymus* L.). **J. Agric. Food Chem.**, v. 51, p. 601-608, **2003**.

WANG, M. *et al.* Sharing and community curation of mass spectrometry data with Global Natural Products Social Molecular Networking. **Nature Biotechnology**, v. 34, p. 828–837, 2016.

WANG, S.C; HUANG, C.M.; TSAI, T.H. Determinations of geniposide using LC/MS/MS methods via forming ammonium and acetate adducts. **Microchemical Journal**, v. 86, p. 174–182, 2007.

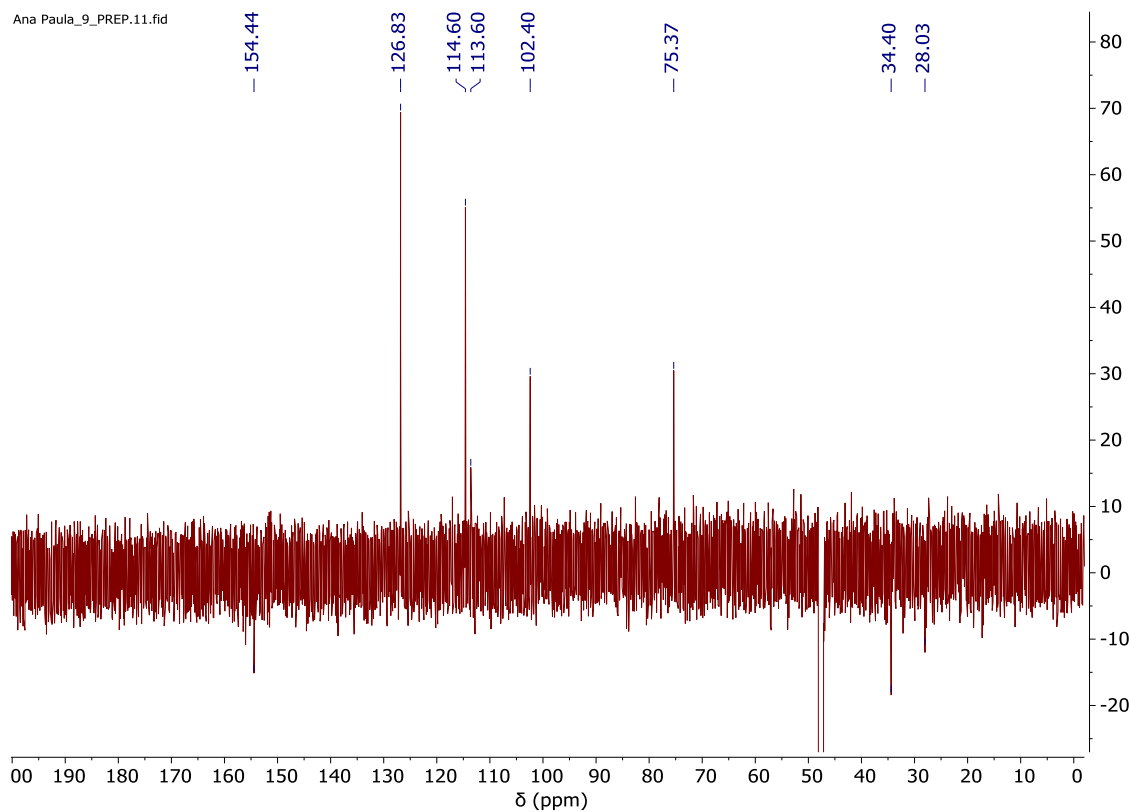
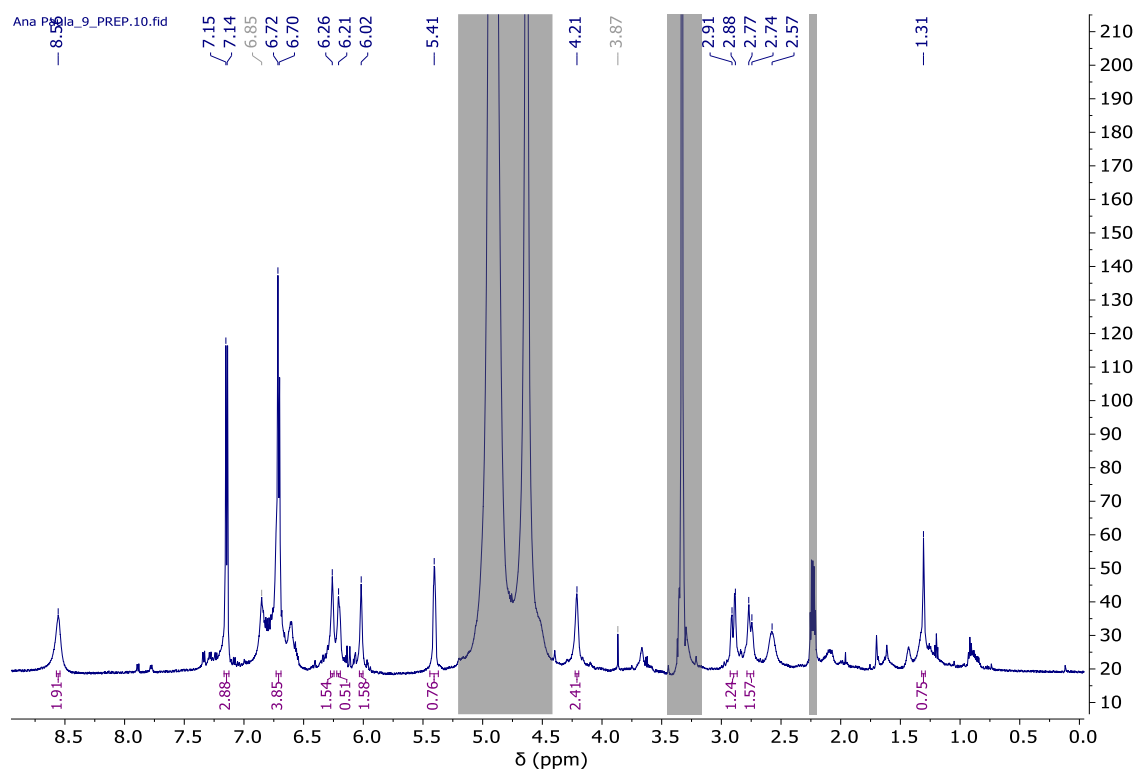
WISHART, D.S. Drugbank: a comprehensive resource for in silico drug discovery and exploration. **Nucleic Acids Res.** v.34, 2006.

YANG, H. *et al.* admetSAR 2.0: web-service for prediction and optimization of chemical ADMET properties. **Bioinformatics**, v. 35, n. 6, p. 1067-1069, 2018.

YU, H.; ADEDOYIN, A. ADME–Tox in drug discovery: integration of experimental and computational technologies. **Drug Discovery Today**, v. 8, n. 18, p. 852-861, 2003.

YUZUAK, S.; BALLINGTON, J.; XIE, D. Y. HPLC-qTOF-MS/MS-Based Profiling of Flavan-3-ols and Dimeric Proanthocyanidins in Berries of Two Muscadine Grape Hybrids FLH 13-11 and FLH 17-66. **Metabolites**, v.8, n.4, p. 1-24, 2018.

ZOETE, V. *et al.* SwissSimilarity: A Web Tool for Low to Ultra High Throughput Ligand-Based Virtual Screening. **J. Chem. Inf. Model.** v.56, n. 8, p. 1399–1404, 2016.

ANEXO B- ESPECTROS DE NMR DO COMPOSTO ISOLADO SSP2Espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (DMSO-D₆, 150 MHz) do composto SSP2.Espectro de RMN ^1H (600 MHz, DMSO-D₆) do composto SSP2.

ANEXO C- TABELA COM AS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DO BANCO DE DADOS DE COMPOSTOS

Tabela 1. Propriedades farmacocinéticas dos compostos identificados em plantas do gênero *Chamaecrista*.

	Composto	MM	LHA	LHD	logP	TPSA (Å)	LR	Fsp ³	Viol.		DrugS	Referência /espécies
		Marv	Moli	Moli	Moli	Moli	Moli	Swiss	ROF	Veber		
1.	(Epi)afz-(epi)afz-(epi)fis-(epi)gui	1075,04	19	15	6,64	340,36	7	0,20	4	1	0,38	Cnc ^(Mateos-Martín 2014)
2.	(Epi)afz-(epi)afz-A-(epi)cat	832,78	16	12	4,71	279,67	4	0,20	3	1	0,87	Cnc ^(Mateos-Martín 2014)
3.	(Epi)cat-(epi)fis-A-(epi)afz	832,77	16	12	4,33	279,67	4	0,20	3	1	0,47	Cnc ^(Mateos-Martín 2014)
4.	(Epi)fis-(epi)cat-(epi)afz-(epi)gui	1091,04	20	16	6,10	360,58	7	0,20	4	1	0,48	Cnc ^(Mateos-Martín 2014)
5.	(Epi)fis-(epi)cat-(epi)fis	834,78	16	13	3,96	290,67	5	0,20	3	1	0,35	Cnc ^(Mateos-Martín 2014)
6.	(Epi)fis-(epi)cat-(epi)gui	818,78	15	12	4,45	270,44	5	0,20	3	1	0,39	Cnc ^(Mateos-Martín 2014)
7.	(Epi)fis-(epi)cat-A-(epi)fis	832,77	16	12	3,95	279,67	4	0,20	3	1	0,53	Cnc ^(Mateos-Martín 2014)
8.	(Epi)fis-(epi)fis-(epi)afz	818,78	15	12	4,42	270,40	5	0,20	3	1	0,41	Cnc ^(Mateos-Martín 2014)
9.	(Epi)fis-(epi)fis-(epi)cat	834,78	16	13	3,96	290,67	5	0,20	3	1	0,27	Cnc ^(Mateos-Martín 2014)

	Composto	MM	LHA	LHD	logP	TPSA (Å)	LR	Fsp ³	Viol.		DrugS	Referência /espécies
		Marv	Moli	Moli	Moli	Moli	Moli	Swiss	ROF	Veber		
10.	(Epi)fis-(epi)fis-(epi)cat-(epi)fis	1107,03	21	17	5,25	380,80	7	0,20	4	1	0,33	Cnc ^(Mateos-Martín 2014)
11.	(Epi)fis-(epi)fis-(epi)fis-(epi)fis	1091,04	20	16	5,34	360,50	7	0,20	4	1	0,35	Cnc ^(Mateos-Martín 2014)
12.	(Epi)fis-(epi)fis-(epi)gui	802,78	14	11	4,53	250,20	5	0,20	3	1	0,27	Cnc ^(Mateos-Martín 2014)
13.	(Epi)fis-(epi)fis-A-(epi)afz	816,77	15	11	4,41	259,40	4	0,20	3	1	0,49	Cnc ^(Mateos-Martín 2014)
14.	(Epi)fis-A-(epi)fis-(epi)afz	816,77	15	11	4,41	259,40	4	0,20	3	1	0,59	Cnc ^(Mateos-Martín 2014)
15.	(Epi)gui-(epi)afz-(epi)fis-(epi)cat	1091,04	20	16	6,10	360,50	7	0,20	4	1	0,45	Cnc ^(Mateos-Martín 2014)
16.	(Epi)gui-(epi)cat-(epi)cat	834,78	16	13	4,37	290,60	5	0,20	3	1	0,57	Cnc ^(Mateos-Martín 2014)
17.	(Epi)gui-(epi)cat-(epi)fis	818,78	15	12	4,45	270,40	5	0,20	3	1	0,39	Cnc ^(Mateos-Martín 2014)
18.	(Epi)gui-(epi)cat-(epi)gui	802,78	14	11	4,94	250,20	5	0,20	3	1	0,39	Cnc ^(Mateos-Martín 2014)
19.	(Epi)gui-(epi)cat-(epi)gui-(epi)gui	1059,04	18	14	6,65	320,13	7	0,20	4	1	0,46	Cnc ^(Mateos-Martín 2014)

	Composto	MM	LHA	LHD	logP	TPSA (Å)	LR	Fsp ³	Viol.		DrugS	Referência /espécies
		Marv	Moli	Moli	Moli	Moli	Moli	Swiss	ROF	Veber		
20.	(Epi)gui-(epi)fis-(epi)fis	802,78	14	11	4,53	250,21	5	0,20	3	1	0,39	Cnc ^(Mateos-Martín 2014)
21.	(Epi)gui-(epi)fis-(epi)fis-(epi)fis	1075,04	19	15	5,80	340,36	7	0,20	4	1	0,48	Cnc ^(Mateos-Martín 2014)
22.	1,4,5,6,7-pentametóxi-2-metilantraquinona	372,37	7	0	3,87	80,31	5	0,30	0	0	-0,42	Cnc ^(Mateos-Martín 2014)
23.	1,5-dihidróxi-4,6,7-trimetóxi-2-metilantraquinona	344,32	7	2	3,32	102,30	5	0,22	0	0	-0,07	Cgr ^(Barba 1994)
24.	1,7-dimetóxi-4-hidróxi-5,6-metilenedióxi-2-metilantraquinona	342,30	7	1	-3,39	91,31	2	0,22	0	0	-0,30	Cgr ^(Barba 1994)
25.	1H-2-benzopiran-1-ona,6,8-dihidróxi-3-metil	273,31	4	1	2,44	63,33	1	0,14	0	0	-0,32	Cdp ^(Gomes 2021)
26.	2-(3,4-dihidróxifenil)-5,7-dihidróxi-8-[3,4,5-trihidróxi-6-(hidróximetil)oxan-2-il]crom-4-ona	448,38	8	11	0,03	201,27	3	0,29	2	1	0,59	Cdp ^(Gomes 2021)
27.	2-(4,4-dimetil-2-metilenepentil)	228,28	4	2	2,27	74,60	7	0,67	0	0	-0,86	Cdp ^(Gomes 2021)
28.	2,4- diacetilfloroglucinol	210,18	5	3	1,28	94,83	2	0,20	0	0	-1,41	Cdp ^(Gomes 2021)

Composto	MM	LHA	LHD	logP	TPSA (Å)	LR	Fsp ³	Viol.		DrugS	Referência /espécies
	Marv	Moli	Moli	Moli	Moli	Moli	Swiss	ROF	Veber		
29. 2-hidróxi-xantoside	417,43	10	6	-2,19	165,78	4	0,65	1	1	1,00	Cdc ^(Lima 2022)
30. 3'R-hidróximarmesin-4'-O-β-D-glucopiranosídeo	424,40	9	5	-0,52	159,05	4	0,55	0	1	-0,13	Cen*
31. 4,5-dihidróxi-1,6,7-trimetóxi-2-metilantraquinona	344,32	7	2	3,32	102,30	3	0,22	0	0	-0,22	Cgr ^(Barba 1994)
32. 4,6-dihidróxi-1,5,7-trimetóxi-2-metilantraquinona	344,32	7	2	3,32	102,30	3	0,22	0	0	-0,01	Cgr ^(Barba 1994)
33. 4,6-dihidróxi-2-hidróximetil-1,5,7-trimetóxi-antraquinona	360,32	8	3	2,21	122,53	4	0,22	0	0	0,16	Cgr ^(Barba 1994)
34. 4,6-dihidróxi-5,7-dimetóxi-2-metilantraquinona	314,29	6	2	3,33	93,07	2	0,18	0	0	-0,25	Cgr ^(Barba 1994)
35. 4,7-dihidróxi-1,5,6-trimetóxi-2-metilantraquinona	358,35	7	1	3,59	91,31	4	0,22	0	0	-0,01	Cgr ^(Barba 1994)
36. 4,7-dihidróxi-2-hidróximetil-1,5,6-trimetóxi-antraquinona	360,32	8	3	2,17	122,53	4	0,22	0	0	-0,13	Cgr ^(Barba 1994)

Composto	MM	LHA	LHD	logP	TPSA (Å)	LR	Fsp ³	Viol.		DrugS	Referência /espécies
	Marv	Moli	Moli	Moli	Moli	Moli	Swiss	ROF	Veber		
37. 4-[4-(acetiloxi)-3-metóxi-fenil]-2-[4-(acetiloxi)fenil]-5-oxolan-3-il acetato	442,42	9	0	2,44	114,45	9	0,30	0	0	-0,04	Cgr ^(Barba 1994)
38. 4-hidróxi-1,5,6,7-tetrametóxi-2-metilantraquinona	358,35	7	1	3,59	91,31	4	0,26	0	0	-0,14	Cgr ^(Barba 1994)
39. 4-hidróxi-2-hidróximetil-1,5,6,7-tetrametóxi-antraquinona	374,34	8	2	2,48	111,53	5	0,26	0	0	0,02	Cgr ^(Barba 1994)
40. 4-hidróxi-3-(4-hidróxi-3-metóxi-fenil)-5-(4-hidróxi-fenil)oxolan-2-ona	316,30	6	3	1,9	96,20	3	0,24	0	0	0,13	Cgr ^(Barba 1994)
41. 4-hidróxi-5,6,7-trimetóxi-2-metilantraquinona	328,32	6	1	3,61	82,06	3	0,22	0	0	-0,23	Cgr ^(Barba 1994)
42. 5,6-dimetóxi-1,4,7-trihidróxi-2-metilantraquinona	330,29	7	3	3,01	113,29	2	0,75	0	0	-0,13	Cgr ^(Barba 1994)
43. 5-[4-[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihidróxi-6-(hidróximetil)oxan-2-il]oxifenil]chomon-4-ona	416,38	9	5	0,75	149,82	4	0,29	0	0	0,19	Cdp ^(Gomes 2021)

	Composto	MM	LHA	LHD	logP	TPSA (Å)	LR	Fsp ³	Viol.		DrugS	Referência /espécies
		Marv	Moli	Moli	Moli	Moli	Moli	Swiss	ROF	Veber		
44.	5-Hidróxi- 1,4,6,7-tetrametóxi-2-metilantraquinona	358,35	7	1	3,59	91,31	4	0,26	0	0	-0,28	Cgr ^(Barba 1994)
45.	7-hidróxi-2,5-dimetil-4H-chromon-4-ona	190,20	3	1	1,91	50,44	0	0,18	0	0	-0,67	Cdp ^(Gomes 2021)
46.	7-O- α -L-ramnosyl-3-O- β -D-glucopiranosil caempferol	594,52	15	9	-0,66	249,2	6	0,44	3	1	0,76	Cen*
47.	Ácido elágico	302,19	8	4	0,94	141,33	0	0,00	0	0	-1,11	Cnc ^(Mateos-Martín 2014)
48.	Ácido 2-(4,4-dimethyl-2-Ácido butanodióico 2-(4,4-dimetil-2-metilenopentil) (isômero)	228,29	4	2	2,27	74,60	7	0,67	0	0	-0,86	Cdp ^(Gomes 2021)
49.	Ácido 3-O-betulínico p-coumurato	602,86	5	2	8,88	83,83	6	0,22	2	0	-0,76	Cgr ^(Barba 1994)
50.	Ácido 9,12,13-trihidróxi-10(E),15(Z)-octadecadienoico	328,45	5	4	2,88	97,98	14	0,72	0	0	-0,45	Cdp ^(Gomes 2021)
51.	Ácido 9,12,13-trihidróxi-octadec-10-enoico	330,46	5	4	3,66	97,98	15	0,83	0	1	-0,89	Cdp ^(Gomes 2021)
52.	Ácido azelaico	188,22	4	2	1,87	74,60	8	0,78	0	0	-0,01	Cdp ^(Gomes 2021)

	Composto	MM	LHA	LHD	logP	TPSA (Å)	LR	Fsp ³	Viol.		DrugS	Referência /espécies
		Marv	Moli	Moli	Moli	Moli	Moli	Swiss	ROF	Veber		
53.	Ácido butanodióico 2-(4,4-dimetil-2-metilenopentil)(isômero)	228,28	4	2	2,27	74,60	7	0,67	0	0	-0,86	Cdp ^(Gomes 2021)
54.	Ácido Diisooctil ester 1, 2-benzenodicarboxílico	390,56	4	0	8,39	52,61	18	0,67	1	1	-0,43	Cni ^(Tangavelou 2018)
55.	Ácido hidróxiocetadecatrienoico	294,43	3	2	6,50	57,53	13	0,61	1	1	-0,84	Cdp ^(Gomes 2021)
56.	Ácido linoleico	280,45	1	1	6,86	37,30	14	0,72	1	1	-0,30	Cab ^(Sebei 2014)
57.	Ácido linolenico	278,44	2	1	5,84	37,30	13	0,61	2	1	0,09	Cab ^(Sebei 2014)
58.	Ácido n-hexadecanoico	256,43	2	1	7,06	37,30	14	0,94	1	1	-0,54	Cni ^(Tangavelou 2018)
59.	Ácido octadecanoico	284,48	2	1	8,07	37,30	16	0,94	1	1	-0,54	Cni ^(Tangavelou 2018)
60.	Ácido oleico	282,46	2	1	7,58	37,30	15	0,83	1	1	-0,30	Cab ^(Sebei 2014)
61.	Ácido sinapínico	224,21	5	2	1,26	76,00	4	0,18	0	0	-1,07	Cdp ^(Gomes 2021)
62.	Aloesol	234,25	4	2	1,84	70,67	2	0,26	0	0	0,31	Cdp ^(Gomes 2021)
63.	Apigenina	270,24	5	3	2,46	90,89	1	0,00	0	0	0,39	Cnc ^(Mateos-Martín 2014)
64.	Apigenina-5-ramnosídeo	416,38	9	5	1,42	149,82	3	0,29	0	1	0,78	Cdc ^(Lima 2022)
65.	Apigenina-7-O-	432,38	10	6	0,68	170,05	4	0,29	1	1	0,59	Cdc ^(Lima 2022)

Composto	MM	LHA	LHD	logP	TPSA (Å)	LR	Fsp ³	Viol.		DrugS	Referência /espécies	
	Marv	Moli	Moli	Moli	Moli	Moli	Swiss	ROF	Veber			
galactopiranosídeo												
66.	Apiin	564,49	14	8	-0,74	225,06	7	0,42	3	1	0,88	Cdc ^(Lima 2022)
67.	Beta-amirina	426,73	1	1	8,02	20,23	0	0,93	1	0	-0,22	Cab ^(Sebei 2014)
68.	Beta-sisterol	414,72	1	1	8,62	20,23	6	0,93	1	0	0,78	Cab ^(Sebei 2014)
69.	Caempferitrina	578,52	14	8	0,35	228,97	5	0,44	3	1	0,73	Cen*
70.	Caempferol -6-C-hexosil-(1→2)-ramnosídeo	594,52	14	9	-0,18	239,97	5	0,44	3	1	0,88	Cnc ^(Quirós-Guerrero 2019)
71.	Caempferol -O-hexosídeo-O-ramnosil-hexosídeo	756,66	20	12	-2,36	328,35	9	0,55	3	1	0,79	Cnc ^(Quirós-Guerrero 2019)
72.	Caempferol-3-glucuronídeo	464,38	12	7	0,00	207,35	4	0,33	2	1	1,06	Cdc ^(Lima 2022)
73.	Caempferol-3-O-β-D-glucopiranosídeo	448,38	12	7	0,00	207,35	4	0,29	2	1	0,67	Cdc ^(Lima 2022)
74.	Caempferol-3-O-β-D-glucuronídeo	462,36	12	7	0,00	207,35	4	0,24	2	1	0,76	Cdc ^(Lima 2022)
75.	Caempferol-O-ramnosilhexosídeo-O-acetato	636,56	16	8	-0,09	255,28	3	0,45	3	1	1,09	Cnc ^(Quirós-Guerrero 2019)
76.	Campesterol	400,69	1	1	8,30	20,23	5	0,93	1	0	0,59	Cab ^(Sebei 2014)
77.	Cartormin	575,52	14	10	-1,93	250,46	6	0,41	3	1	0,26	Cdc ^(Lima 2022)
78.	Carviolin isomer	300,23	6	3	2,17	104,06	2	0,12	0	0	-0,28	Cdp ^(Gomes 2021)

	Composto	MM	LHA	LHD	logP	TPSA (Å)	LR	Fsp ³	Viol.		DrugS	Referência /espécies
		Marv	Moli	Moli	Moli	Moli	Moli	Swiss	ROF	Veber		
79.	Cassiaoccidentalina A	560,51	13	7	0,21	216,58	4	0,41	3	1	0,82	Cnc ^(Quirós-Guerrero 2019)
80.	Cassiaoccidentalina B	576,51	14	8	-0,28	236,81	4	0,41	3	1	0,84	Cnc ^(Mateos-Martín 2014)
81.	Chamaecristanol A	406,43	6	4	3,36	99,38	3	0,25	0	0	0,31	Cpm ^(Than,2022)
82.	Chamaecristanol B	436,46	7	4	3,37	108,61	4	0,28	0	0	0,67	Cpm ^(Than,2022)
83.	Chamaetexanina A	316,44	3	1	3,57	50,44	0	0,75	0	0	0,20	Cfl ^(Barba 1992)
84.	Chamaetexanina B	332,44	3	2	2,92	70,67	1	0,75	0	0	0,29	Cfl ^(Barba 1992)
85.	Chamaetexanina C	318,46	3	2	3,30	57,53	2	0,75	0	0	0,20	Cfl ^(Barba 1992) Cgr ^(Barba 1994)
86.	Chamaetexanina C acetonida	358,52	3	0	5,19	35,54	1	0,78	1	0	-0,80	Cgr ^(Barba 1994)
87.	Chamaetexanina D	346,47	3	2	3,50	66,76	2	0,76	0	0	-0,09	Cfl ^(Barba 1992) Cgr ^(Barba 1994)
88.	Chamaetexanina E	288,39	2	0	3,50	43,37	2	0,78	0	0	-0,73	Cfl ^(Barba 1992)
89.	Cicloartenol	426,72	1	1	8,21	20,23	4	0,93	1	0	-0,27	Cab ^(Sebei 2014)
90.	Cicloartenol-24-metileno	444,76	1	1	8,03	20,23	5	0,94	1	0	-0,48	Cdp ^(Gomes 2021)
91.	Cinchonain I b	452,41	9	6	1,85	156,91	2	0,21	1	1	0,97	Cdc ^(Lima 2022)

	Composto	MM	LHA	LHD	logP	TPSA (Å)	LR	Fsp ³	Viol.		DrugS	Referência /espécies
		Marv	Moli	Moli	Moli	Moli	Moli	Swiss	ROF	Veber		
92.	Colesterol	386,66	1	1	7,62	20,23	5	0,93	1	0	0,49	Cab ^(Sebei 2014)
93.	Crisofanol	254,24	4	2	3,54	74,60	0	0,07	0	0	-0,13	Cni ^(Tangavelou 2018)
94.	Crisofanol glucosídeo	416,38	9	5	1,49	153,75	3	0,33	0	1	0,53	Cdc ^(Lima 2022)
95.	Daidzin I	416,38	9	5	0,77	149,82	4	0,29	0	1	-0,02	Cdc ^(Lima 2022)
96.	Delta-5,24-estigmasterol	412,70	1	1	8,20	20,23	5	0,86	1	0	0,96	Cab ^(Sebei 2014)
97.	Delta-5-avensterol	412,70	1	1	7,69	20,23	5	0,86	1	0	0,85	Cab ^(Sebei 2014)
98.	Dihidrocaempferol	288,25	6	4	1,20	107,22	1	0,13	0	0	0,85	Cdp ^(Gomes 2021) , Cdc ^(Lima 2022)
99.	Emodina	270,24	5	3	3,06	94,83	0	0,07	0	0	-0,81	Cdp ^(Gomes 2021)
100	Epi-afz-epi-cat-epi-afz	834,78	16	13	4,77	290,67	5	0,20	3	1	0,79	Cnc ^(Quirós-Guerrero 2019)
101	Epi-afz-epi-fis-epi-fis	818,78	15	12	4,45	270,44	5	0,20	3	1	0,44	Cnc ^(Quirós-Guerrero 2019)
102	Epi-cat-epi-cat	578,53	12	10	2,58	220,75	3	0,20	3	1	0,73	Cnc ^(Quirós-Guerrero 2019)
103	Epi-cat-epi-fis-epi-fis	834,78	16	13	3,96	290,67	5	0,20	3	1	0,38	Cnc ^(Quirós-Guerrero 2019)
104	Epi-fis-A-epi-cat	560,51	11	8	2,65	189,53	2	0,20	3	1	0,54	Cnc ^(Quirós-Guerrero 2019)

	Composto	MM	LHA	LHD	logP	TPSA	LR	Fsp ³	Viol.		DrugS	Referência /espécies
		Marv	Moli	Moli	Moli	(Å) Moli	Moli	Swiss	ROF	Veber		
105	Epi-fis-epi-afz	546,53	10	8	3,15	180,29	3	0,20	2	1	0,53	Cnc ^(Quirós-Guerrero 2019)
106	Epi-fis-epi-afz-epi-gui	802,78	14	11	4,94	250,21	5	0,20	3	1	0,39	Cnc ^(Quirós-Guerrero 2019)
107	Epi-fis-epi-cat	562,53	11	9	2,66	200,52	3	0,20	3	1	0,49	Cnc ^(Quirós-Guerrero 2019)
108	Epi-gui-epi-afz	530,53	7	9	3,64	160,06	3	0,20	2	1	0,37	Cnc ^(Quirós-Guerrero 2019)
109	Epi-gui-epi-cat	546,53	10	8	3,15	180,29	3	0,20	2	1	0,53	Cnc ^(Quirós-Guerrero 2019)
110	Éster metílico, (Z, Z, Z)-9, 12, ácido 15-octadecatrienoico	292,46	2	1	6,15	26,30	14	0,67	0	0	-0,93	Cni ^(Tangavelou 2018)
111	Estigmasterol	412,69	1	1	7,87	20,23	5	0,86	1	0	0,62	Cab ^(Sebei 2014)
112	Estragol	148,20	1	0	2,82	9,23	3	0,20	0	0	-1,74	Cdc ^(Lopes 1993)
113	Eugenol	164,20	2	1	2,10	29,46	3	0,20	0	0	-0,74	Cdc ^(Lima 2022)
114	Eupanolídeo A	462,49	9	1	1,92	125,45	9	0,50	0	0	-0,98	Cdc ^(Lima 2022)
115	Fisciona	284,27	5	2	3,54	83,83	1	0,12	0	0	-0,81	Cni ^(Tangavelou 2018)
116	Fisciona 8-glucosídeo	446,41	10	4	1,50	169,98	4	0,36	0	1	0,66	Cen*

	Composto	MM	LHA	LHD	logP	TPSA (Å)	LR	Fsp ³	Viol.		DrugS	Referência /espécies
		Marv	Moli	Moli	Moli	Moli	Moli	Swiss	ROF	Veber		
117	Fisetina	286,24	6	4	1,97	111,12	1	0,00	0	0	0,46	Cdp ^(Gomes 2021)
118	Genisteina-7,4'-di-O-β-D-glucosídeo	594,52	15	9	-1,31	249,20	7	0,44	3	1	0,45	Cen*
119	Hispidulina 7-(6-E-p-cumaroil-β-D-glucopiranosídeo)	608,55	13	6	2,83	201,67	9	0,23	3	1	0,87	Cdc ^(Lima 2022)
120	Isoaloeresina A	564,54	11	5	1,7	226,82	9	0,52	2	1	0,69	Cen*
121	Isoorientina	448,38	8	11	0,03	201,27	3	0,29	2	1	0,59	Cdp ^(Gomes 2021)
122	Isoramnetina-3-O-β-D-galactosídeo	478,41	12	7	0,06	199,51	5	0,32	2	1	0,59	Cdc ^(Lima 2022)
123	Isovitexina	432,38	10	7	0,52	181,04	3	0,29	1	1	0,59	Cdp ^(Gomes 2021)
124	Isovitexina-3"-O-glucopiranosídeo	594,52	15	10	-1,41	260,19	6	0,44	3	1	0,67	Cen*
125	Isovitexina-O-pentosídeo	580,49	15	10	-1,39	260,19	5	0,42	3	1	0,73	Cdp ^(Gomes 2021)
126	Luteolina	286,24	6	4	1,97	111,12	1	0,00	0	0	0,38	Cdp ^(Gomes 2021) , Cnc ^(Mateos-Martín 2014)
127	Luteolina dihexosídeo	610,52	16	10	-1,83	269,43	7	0,44	3	1	0,60	Cnc ^(Mateos-Martín 2014)
128	Luteolina hexosídeo	448,38	11	7	0,19	190,28	4	0,29	2	1	0,60	Cnc ^(Mateos-Martín 2014)

	Composto	MM	LHA	LHD	logP	TPSA (Å)	LR	Fsp ³	Viol.		DrugS	Referência /espécies
		Marv	Moli	Moli	Moli	Moli	Moli	Swiss	ROF	Veber		
129	Luteolina-7-O-glicosídeo	448,38	11	7	0,19	190,28	4	0,29	2	1	0,60	Cdp ^(Gomes 2021)
130	Luteolina-7-O-glucuronídeo- éster etílico	490,417	12	6	1,06	196,35	6	0,30	2	1	0,88	Cdc ^(Lima 2022)
131	Luteolina-C-hexosídeo	448,38	11	8	0,03	201,27	3	0,29	2	1	0,59	Cnc ^(Quirós-Guerrero 2019)
132	Marstenacigenina A	514,66	6	5	3,15	118,21	4	0,70	0	0	0,60	Cen*
133	Metil chavicol	148,21	1	0	2,82	9,,23	3	0,20	0	0	-1,74	Cdc ^(Lopes 1993)
134	Metil eugenol	178,23	2	0	2,41	18,47	4	0,27	0	0	-1,08	Cdc ^(Lopes 1993)
135	Metil-15,16-bisnor-7β- acetoxi- 12-oxocassan-8(14)- en- 17-oato	362,47	5	0	3,75	69,68	4	0,76	0	0	0,03	Cgr ^(Barba 1994)
136	Naringenina	272,26	5	3	2,12	86,99	1	0,13	0	0	0,82	Cdp ^(Gomes 2021)
137	Nitric acid nonyl	189,25	4	0	4,91	55,06	0	1	0	0	-0,79	Cni ^(Tangavelou 2018)
138	Norlichexanthone	258,23	5	4	3,66	97,98	15	0,83	0	1	0,89	Cdp ^(Gomes 2021)
139	Ononina	430,41	9	4	1,31	138,82	5	0,32	0	0	-0,10	Cdc ^(Lima 2022)
140	Orientina	448,38	8	11	0,03	201,27	3	0,29	2	1	0,59	Cdp ^(Gomes 2021)
141	Orientin-O-hexoside	626,52	17	12	-2,31	300,65	3	0,44	3	1	0,58	Cdp ^(Gomes 2021)
142	Picrosídeo III	538,50	13	6	-0,63	197,14	9	0,56	3	1	-0,01	Cen*

	Composto	MM	LHA	LHD	logP	TPSA (Å)	LR	Fsp ³	Viol.		DrugS	Referência /espécies
		Marv	Moli	Moli	Moli	Moli	Moli	Swiss	ROF	Veber		
143	Procianidina B2	578,526	12	10	2,58	220,75	3	0,20	3	1	0,73	Cdc*
144	Quercetin-3-O- α -L-arabinopyranoside	434,35	11	7	0,06	190,28	3	0,24	2	1	0,81	Cdc ^(Lima 2022)
145	Quercetina 3-O- β -D-ácido glucopiranosidurônico	478,36	13	8	-0,49	269,43	4	0,24	2	1	0,81	Cdc ^(Lima 2022)
146	Quercetina-3-galactosídeo-7-glucosídeo	626,52	17	11	-2,15	289,65	7	0,44	3	1	0,64	Cdc ^(Lima 2022)
147	Quercetina-O-hexosídeo	464,38	12	8	-0,36	210,50	4	0,29	2	0	0,68	Cnc ^(Mateos-Martín 2014; Quirós-Guerrero 2019)
148	Quercetina-O-hexosídeo-O-acetato	506,42	12	7	-0,20	216,58	6	0,30	3	1	0,89	Cnc ^(Quirós-Guerrero 2019)
149	Quercetin-O-rhamnosyl-(1 \rightarrow 6)-hexoside	610,52	16	12	-1,06	269,43	6	0,44	3	0	0,91	Cnc ^(Quirós-Guerrero 2019)
150	Ramnetina-O-(acetil)hexosídeo	520,44	13	6	0,88	205,59	7	0,33	3	1	0,74	Cnc*
151	Resveratrol	228,25	3	3	2,99	60,68	2	0,00	0	0	-1,00	Cdp ^(Gomes 2021) , Cgr ^(Barba 1994)
152	Rutaretina	262,26	5	2	1,89	79,90	1	0,36	0	0	-0,82	Cdp ^(Gomes 2021)
153	Rutaretina (isomer)	262,26	5	2	1,89	79,90	1	0,36	0	0	-0,82	Cdp ^(Gomes 2021)

	Composto	MM	LHA	LHD	logP	TPSA (Å)	LR	Fsp ³	Viol.		DrugS	Referência /espécies
		Marv	Moli	Moli	Moli	Moli	Moli	Swiss	ROF	Veber		
154	Shionoside A	448,51	10	6	-0,64	158,30	7	1	1	1	-0,13	Cen*
155	Shionoside C	488,57	10	4	1,25	136,32	6	1	0	0	-0,30	Cen*
156	Sirigina	372,37	9	5	-0,66	138,08	7	0,32	0	0	0,05	Cen*
157	Tilirosídeo	594,52	13	7	2,49	216,58	8	0,20	3	1	0,75	Cdc ^(Lima 2022)
158	Toracrisona-8- hexosilhexosídeo	570,54	14	8	-0,91	225,06	8	0,58	3	1	0,46	Cdp ^(Gomes 2021)
159	Toracrisona-8- hexosilpentosídeo (isômero)	540,58	13	7	-0,48	204,84	7	0,56	3	1	0,77	Cdp ^(Gomes 2021)
160	Viscumneosídeo II	534,47	13	5	1,18	194,59	8	0,36	2	1	0,66	Cdc ^(Lima 2022)
161	Viscumneosídeo IV	636,56	16	7	0,25	252,12	12	0,41	3	2	0,70	Cdc ^(Lima 2022)
162	Vitexina	432,38	10	7	0,52	181,04	3	0,29	1	1	0,60	Cdp ^(Gomes 2021)
163	Wogonoside	460,39	11	5	0,82	176,12	5	0,27	1	1	0,70	Cdc ^(Lima 2022)
164	Yuankanin	578,52	14	7	-0,33	217,98	7	0,44	3	1	0,83	Cdc ^(Lima 2022) , Cen*

MM: massa molecular em mol.g⁻¹; LHA: número de ligações de hidrogênio aceitadoras; LHD: número de ligações de hidrogênio doadoras; TPSA: *Topological polar surface area*; LR: ligações rotacionais; Fsp³: frações de carbono sp³; ROF: *rule of five*, regra de Lipinski; DrugS: *druglikeness score*; Cab; *Chamaecrista absus*; Cdp: *Chamaecrista Dyphilla*; Cnc: *Chamaecrista nictitans*; Cni: *Chamaecrista nigricans*; Cdc: *Chamaecrista duckeana*; Cfl: *Chamaecrista flexuosa*; Cgr: *Chamaecrista greggii*; Cen: *Chamaecrista ensiformis*;

ANEXO D- CAPA DO ARTIGO PUBLICADO

JOURNAL OF BIOMOLECULAR STRUCTURE AND DYNAMICS
<https://doi.org/10.1080/07391102.2022.2124455>



Check for updates

Virtual screening of flavonoids from *Chamaecrista* genus: ADME and pharmacokinetic properties, interactions of flavonoid–DNA complex by molecular docking and molecular dynamics

Ana Paula S. Oliveira^a, Daniele R. Lima^b, Lucas L. Bezerra^b, Norberto K.V. Monteiro^b , Otilia D. Loiola^a and Maria Goretti V. Silva^{a,b}

^aDepartment of Organic and Inorganic Chemistry, Federal University of Ceará, Fortaleza, Brazil; ^bDepartment of Physico-chemical and Analytic Chemistry, Federal University of Ceará, Fortaleza, Brazil

Communicated by Ramaswamy H. Sarma

ABSTRACT

This research aimed to conduct an *in silico* study of compounds, mainly flavonoids, that are found in several plants, including the species of the *Chamaecrista* genus. The ADME properties, the drug-likeness score and properties of Lipinski and Veber rules of the molecules were determined using online databases. Based on the predicted properties, four flavonoids, apigenin, fisetin, luteolin and ononin were selected for molecular docking and dynamic simulations to study their interactions with DNA (PDB ID: 1BNA). The molecular docking showed that ononin has a high affinity for B-DNA, exhibiting a ΔG value of $-9.3 \text{ kcal mol}^{-1}$, compared with the other flavonoids. The molecular dynamic simulations of the flavonoid–DNA complexes showed that the flavonoids interacted with DNA by hydrogen bonding, hydrophobic interaction and π -stacking. The flavonoid ononin showed the best interaction energy value of $-291.3490 \text{ kJ mol}^{-1}$, compared with the other flavonoids.

ARTICLE HISTORY

Received 9 May 2022
 Accepted 5 September 2022

KEYWORDS

Chamaecrista; *in silico*; drug-like inhibitors; tumoral DNA; molecular dynamics

1. Introduction

The drug discovery process has extensive stages before a lead compound is considered a safe and efficient drug available on the market, with a process that takes at least 10 years (Feijoo et al., 2020). The stage of intensive screening of lead compounds substantially decreases fail rates and is cost-effective. To assist the challenge of screening compounds for the oral drug development, some rules related to bioavailability were created. These rules determine some molecular descriptors related to the absorption and liberation of an oral drug into the human body (Leeson & Springthorpe, 2007; Tian et al., 2011). The rules highlight the influence of the pharmacodynamics and pharmacokinetics of the compounds in the human body (Fermini et al., 2018; Malandraki-Miller & Riley, 2021; Yu & Adedoyin, 2003). The most famous are Lipinski's rule of five and Veber's rule (Lipinski, 1997; Veber et al., 2002). All these rules help in the early stages of drug development, avoiding substantial waste of budget money. Also, ADME properties (Absorption, Distribution, Metabolism and Excretion) of a compound that can be predicted by online databases, which are useful methods for the selection of promising hit-to-lead compounds (Rodrigues et al., 2016; Song et al., 2009).

When it comes to drugs for tumor treatment, the attrition rate is high, mainly after phase III trials. Then, the selection

must be careful and use the prediction techniques available for avoid failure (Eddershaw et al., 2000; Hutchinson & Kirk, 2011). Additionally, *in silico* studies, including molecular docking and molecular dynamics (MD), give an insight into the potential of lead compounds as antitumor drugs (Mpiana et al., 2020; Namba et al., 2008). The computational studies that use molecular docking and MD find the specific interactions between the selected molecules and the DNA that could lead to the neutralization DNA replication of tumors (Pindur et al., 2005). This report investigates the inhibitor antitumor role of small molecules found in natural sources on DNA (PDB ID: 1BNA).

Moreover, there is an extensive dataset of natural compounds of several classes, which have pharmacological applications. This rich data bank of compounds from natural products is a valuable source for drug discovery (Mpiana et al., 2020; Song et al., 2009). The plants of the genus *Chamaecrista* (Fabaceae) are unexplored in the literature when it comes to their composition and potential as a source of natural compounds, even though they present terpenes, flavonoids, anthraquinones and other compounds for drug discovery (Mateos-Martín et al., 2014; Medugu et al., 2020). The *Chamaecrista* genus is used in folk medicine, mainly in emerging and developing countries (African, Latin American and Indian countries), as anticonvulsants for the treatment of epilepsy, constipation, febrile seizures and viral

CONTACT Maria Goretti V. Silva mgvsilva@ufc.br Department of Physico-chemical and Analytic Chemistry, Department of Organic and Inorganic Chemistry, Federal University of Ceará, Campus do Pici, Bloco 933, Fortaleza, Ceará 60451-970, Brazil.

Supplemental data for this article can be accessed online at <https://doi.org/10.1080/07391102.2022.2124455>.

© 2022 Informa UK Limited, trading as Taylor & Francis Group