



PREDIÇÃO *IN SILICO* DAS ATIVIDADES BIOLÓGICAS DE COMPOSTOS PRESENTES NO ESTIGMA DE *Zea mays* L. (POACEAE)

Leonardo Gomes Costa^{*1}(IC), Pabline da Silva Gasparoti²(PG), Leonardo Luiz Borges³(PQ), Joelma Abadia Marciano de Paula³(PQ). *farmaleonardogcosta@gmail.com

¹Graduando do curso de Farmácia, bolsista na modalidade PBIT/UEG, Universidade Estadual de Goiás, Campus Anápolis de Ciências Exatas e Tecnológicas; ²Pós-Graduanda do PPGCAPS, CCET, Universidade Estadual de Goiás, Anápolis-GO; ³Docente, CCET, Universidade Estadual de Goiás, Anápolis-GO.

Resumo: O estigma de milho (*Zea mays* L. - Poaceae) é muito utilizado pela cultura popular para tratar diversas enfermidades. O objetivo desse trabalho foi prever e/ou confirmar as atividades fármaco toxicológicas de compostos presentes no extrato de estigma de milho por meio de ferramentas *in silico*. Para tanto, primeiramente foi realizado um levantamento bibliográfico e, em seguida, as análises *in silico*, que foram realizadas utilizando-se as ferramentas *SwissADME*, *docking* e *redocking*. O levantamento bibliográfico apontou, como principais atividades biológicas do estigma de milho, anti-lipidêmica, antioxidante, diurética e anti-fúngica. No estudo *in silico* foi identificado que os flavonoides luteolina e apigenina, pertencentes à classe das flavonas, principal classe de flavonoides presentes no estigma de milho, têm capacidade de se ligar à enzima anidrase carbônica, apresentando uma possível atividade diurética. Observou-se que o principal flavonoide do estigma de milho, maysina, não é *druglikeness*, sugerindo que as principais atividades farmacológicas conhecidas até o momento, podem estar relacionadas a outros compostos.

Palavras-chave: Cabelo de milho. Flavonoides. Flavonas. Diurético. Antioxidante.

Introdução

O milho (*Zea mays* L. – Poaceae) é utilizado na alimentação de animais e humanos devido ao seu alto teor energético advindo do amido (PINHO et al., 2015; RIBEIRO, 2014; BIGANZOLI; ZULUAGA, 2015), sendo um dos cereais mais cultivados no Brasil. Suas características fisiológicas lhe garantem sobrevivência, sendo de grande importância para economia brasileira devido seu alto grau de produtividade. Ao longo dos anos, partes do milho vêm sendo utilizadas na medicina tradicional para tratamento de diversas enfermidades e estudos científicos comprovam várias atividades farmacológicas (GASPAROTI; PAULA, 2021).





O objetivo desse trabalho foi predizer e/ou confirmar as atividades fármaco toxicológicas de compostos presentes no extrato de estigma de milho por meio de ferramentas *in silico*.

Material e Métodos

Os estigmas de *Zea mays* L. (Poaceae) foram obtidos na pamonharia Bouganville, localizada em Anápolis-GO, que adquire os milhos na fazenda Planalto (variedade AGROCERES - semente 1051) cidade de Silvânia-GO. Foram retirados os materiais estranhos e a amostra foi submetida à secagem em estufa, com circulação de ar a 40° C ($\pm 1^\circ\text{C}$), por 24 h ou até a obtenção de umidade entre 8-15%, de acordo com a Farmacopeia Brasileira, 6ª edição (BRASIL, 2019). Após a secagem, o material foi pulverizado em moinho de facas. A triagem fitoquímica e as análises por cromatografia a líquido de alta eficiência de extratos alcoólicos obtidos do material vegetal foram realizadas por outros membros da equipe do projeto.

Para o levantamento bibliográfico foram utilizados os termos de busca, tais como, *Zea mays*, *Zea*, *Corn*, *Indian Corn*, *Corn Indian*, *Maize* e *Teosinte*, sendo o direcionamento de busca para cada termo, utilizando-se os operadores booleanos *or* (para termos dentro da mesma estratégia) e *and* (para associação entre as estratégias). Os bancos de dados utilizados foram: *Pubmed* e *Web of Science*, sem limite quanto a data de publicação. Os artigos, em língua inglesa ou portuguesa foram exportados para a plataforma gratuita *Rayyan QCR1* <https://rayyan.qcri.org/welcome>, vinculada ao *Qatar Computing Research Institute, da Humad Bin Khalifa University*. Para a seleção dos artigos, contou com dois revisores, que selecionaram os artigos através do resumo e título, sendo excluídos trabalhos *in vitro*, *in silico*, mistura de preparo e revisões sistemáticas.

Para os estudos *in silico*, foi realizado um levantamento bibliográfico para a busca dos principais metabólitos ativos presentes no estigma de *Zea mays*. O principal documento desta etapa foi *WHO monographs on medicinal plants commonly used in the Newly Independent States* (NIS) (WHO, 2010). Os dados desse documento foram comparados aos obtidos na triagem fitoquímica do extrato alcoólico de estigma de *Zea mays*. A codificação das moléculas, pela base de dados *Pubchem*,





foi realizada para análises posteriores. A etapa de triagem de bioatividade dos compostos presentes na espécie em estudo foi realizada com os programas *Molinspiration*, *SwissADME*, *ProToxII* e *PASS*. Nesta etapa, foi possível obter uma lista com possíveis atividades biológicas para cada uma das substâncias, segundo a base metodológica de cada programa. Foi realizada uma pesquisa de possíveis alvos para verificação do *docking* molecular utilizando o programa *SuperPred* e *SwisTarget Prediction*, um servidor para a predição de alvos moleculares com potencial de interação com os ligantes investigados. Os alvos que apresentaram relação com a atividade biológica investigada foram obtidos no banco de dados *Protein DataBank* (PDB). Para a validação dos parâmetros do modelo foi realizado o *redocking*, pelo programa ArgusLab 4.0.1, utilizando o complexo ligante-proteína cristalografada e essas condições foram utilizadas para a realização do *docking* com os melhores ligantes da espécie, utilizando-se o DockThor 2.0.

Resultados e Discussão

Foram encontrados 1066 artigos que atendiam a estratégia de busca, obtidos a partir de buscas nas bases *Pubmed* (n= 1050) e *WebOfScience* (n= 806). Dentre esses artigos, 14 foram removidos por serem duplicados. Por atenderem os critérios de inclusão determinados, selecionou-se 7 artigos para leitura na íntegra e extração de dados. Observou-se com os dados obtidos uma atividade anti-lipidêmica, utilizando-se ratos com os parâmetros de moléculas marcadoras de colesterol (SHAHEED *et al.*, 2015; IKPEAZU *et al.*, 2018), protetora renal (BAI *et al.*, 2010; WANS *et al.*, 2020), antifúngica (ZHAO *et al.*, 2017) e antioxidante (SABIU *et al.*, 2016). De acordo com WHO (2010) os principais metabólitos secundários presentes no estigma de milho são os flavonoides, especialmente, 6-C-glicosilflavonas, sendo o principal a maysina. Entre os flavonoides, podem ser encontrados ainda glicosídeos de luteolina (Isoorientina), 6-C-glicosil análogos de apigenina (isovitexina) e chrysoeriol, rutina, luteoforol e apiforol. Entre as atividades farmacológicas preditas através do *software Pass*, observa-se a predominância das atividades antioxidantes, antineoplásicas, anti-hemorrágicas e cardioprotetoras para os compostos considerados *druglikness*. As moléculas apigenina e luteolina foram selecionadas





para investigação de suas possíveis interações (*docking*) com a anidrase carbônica, por pertencerem à mesma classe dos compostos encontrados no estigma de milho, as flavonas. Para o *redocking*, após baixar o ligante cristalografado no PDB, no programa *ArgusLab*, foi retirado o arquivo JTW (2-(benzenesulfonyl)-4-chloro-N-(2-hydroxyethyl)-5-sulfamoyl-benzamide), extraindo-o e religando-o, analisando a posição que o programa calcula para esta molécula, através dos resultados obtidos pelo RMSD. Foram geradas 25 poses, na qual analisou-se visualmente a proximidade entre os ligantes e comprovou-se através dos resultados de RMSD, sendo todos abaixo de 2, comprovando que o programa e o modelo são eficientes. A análise de *docking* molecular foi realizada com o auxílio do software *DockThor 2.0*. Na análise de interação da luteolina (PDB ID: 3SZ1) com o receptor anidrase carbônica (PDB ID: 6R71), constatou-se uma energia de afinidade de -8,768 e para a interação apigenina (PDB ID: 4DGM) com o mesmo receptor, constatou-se uma energia de afinidade de -8,481. Quanto mais negativa a energia de afinidade for, mais o ligante tende a interagir no sítio ativo, com os resíduos definidos.

Considerações Finais

A revisão bibliográfica apontou atividades farmacológicas para o estigma de milho, tais como: anti-lipidêmica, antioxidante, antifúngica e protetor renal. Algumas dessas atividades são idênticas ou fazem analogia às atividades sugeridas para os compostos presentes no estigma de milho investigados nos estudos *in silico*, tais como, atividades antioxidante, cardioprotetora e hepatoprotetora. Nos estudos *in silico*, as flavonas apigenina e luteolina apresentaram uma boa energia de afinidade nas predições, apontando uma potencial interação com o receptor anidrase carbônica, por meio do *docking* molecular. Esses achados sugerem suave a moderada atividade diurética, que requer estudos *in vitro* e *in vivo* para confirmação. Observou-se que o principal composto do estigma de milho, maysina, não é *druglikness*, sugerindo que as principais atividades farmacológicas conhecidas até o momento, podem estar relacionadas a outros compostos.

Os estigmas de milho coletados em pamonharias do presente estudo, pela presença de flavonoides do tipo flavona confirmada nos estudos fitoquímicos, podem





apresentar as atividades farmacológicas indicadas nos estudos bibliográficos e *in silico*, que merecem ser investigadas em estudos adicionais de eficácia e segurança.

Agradecimentos

À Universidade Estadual de Goiás por ter dado a oportunidade por meio da Bolsa PBIT para o financiamento da pesquisa. Agradecemos ao Docente Professor Dr. Leonardo por ter colaborado com o desenvolvimento das análises *in silico* do trabalho. Agradecemos a todos pesquisadores do Lab PD&IBio do Campus Central Anápolis.

Referências

- BAI, H. et al. Protective effect of maize silks (*Maydis stigma*) ethanol extract on radiation-induced oxidative stress in mice. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 65, n. 3, p. 271-276, 2010.
- BIGANZOLI, F.; ZULOAGA, F. Análisis de diversidad de la familia Poaceae em la región austral de América del Sur. **Rodriguésia**, v. 66, n. 2, p. 337-351, 2015.
- BRASIL. **Farmacopeia Brasileira**. 6. ed. Brasília: Anvisa, 2019.
- DockThor. A receptor ligand docking program 2.0.2019
- GASPAROTI, P.; PAULA, J.A.M. Composição fitoquímica e potencial farmacológico do estigma de *Zea mays* L. (Poaceae): uma revisão de escopo. **Revista Movimenta**, v.14, n.2, p.320-340, 2021.
- IKPEAZU, V. O. et al. Evaluation of the safety of oral intake of aqueous extract of *Stigma Maydis* (corn silk) in rats. **Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria**, v. 17, n. 4, p. 387-397, 2018.
- PINHO, R. G. V.; SANTO, A. O.; PINHO, I. V. **Botânica**. In: BORÉM, A; GALVÃO, J.C.C.; PIMENTEL, M, A. Milho do plantio à colheita. Viçosa, MG: Ed. UFV, 2015. cap.1, p 9-23.
- SABIU, S.; O' NEILL, F. H.; ASHAF, A. O. T. Membrane stabilization and detoxification of acetaminophen-mediated oxidative onslaughts in the kidneys of Wistar rats by standardized fraction of *Zea mays* L. (Poaceae), *Stigma maydis*. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2016, 2016.
- SAHEED, S. et al. Toxicological evaluations of *Stigma maydis* (corn silk) aqueous extract on hematological and lipid parameters in Wistar rats. **Toxicology Reports**, v. 2, p. 638-644, 2015.
- WANS, E.M. et al. Ameliorative effects of corn silk extract on acetaminophen-induced renal toxicity in rats. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 28, n. 2, p. 1762-1774, 2020.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. **WHO monographs on medicinal plants commonly used in the Newly Independent States (NIS)**. Geneva, 2010.
- ZHAO, He-Peng et al. Acute toxicity and anti-fatigue activity of polysaccharide-rich extract from corn silk. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 90, p. 686-693, 2017.

