

ESTUDO *IN SILICO* DA COMPOSIÇÃO VOLÁTIL DA ESPÉCIE *MELISSA OFFICINALIS* L CONTRA *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*

Domingos Maweze Gabriel,¹

Aluísio Marques da Fonseca,²

RESUMO

O uso de plantas medicinais na prevenção e tratamento de diversas doenças, remonta desde a antiguidade. A *Melissa officinalis* L, popularmente conhecida como erva-cidreira, emerge como uma planta versátil, amplamente utilizada na medicina tradicional para tratar uma variedade de condições, desde dores de cabeça até problemas de sono. Além disso, a planta encontra aplicação na indústria cosmética e na culinária devido ao seu agradável aroma de limão. Contudo, o avanço significativo na descoberta de medicamentos não impediu a crescente resistência de microrganismos patogênicos aos antibióticos. A resistência bacteriana, em particular, representa uma ameaça significativa à saúde pública, levando os pesquisadores a buscar novos compostos com propriedades inibitórias. A bactéria *Klebsiella pneumoniae*, uma Gram-negativa comumente encontrada em ambientes hospitalares, destaca-se como um patógeno oportunista resistente a antibióticos, causando uma variedade de infecções, especialmente em pacientes imunodeficientes. Os óleos essenciais (OEs), substâncias voláteis extraídas de várias partes de plantas, como folhas, flores e raízes. Esses OEs apresentam propriedades fitoquímicas e biológicas capazes de combater a resistência microbiana. O óleo essencial da *Melissa officinalis* L é identificado como tendo propriedades antioxidantes, antitumorais, antibacterianas, antifúngicas e ansiolíticas, principalmente devido aos seus compostos bioativos. Este trabalho destaca a importância da bioinformática e abordagens computacionais, como o docking molecular, na busca por novos medicamentos. Nesse contexto, o trabalho visa avaliar a atividade antibacteriana do óleo volátil contra a *Klebsiella pneumoniae* por meio de um estudo de acoplamento e dinâmica molecular. Os resultados da energia de afinidade foram significativos para alguns dos compostos selecionados,

¹Instituto de Ciências Exatas e da Natureza, Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, Aracaju-CE, Brasil. Discente do Curso de Licenciatura em Química da Unilab. E-mail: domingosgabriel917@gmail.com

²Mestrado Acadêmico em Sociobiodiversidades e Tecnologias Sustentáveis – MASTS, Instituto de Engenharias e Desenvolvimento Sustentável, Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, Aracaju-CE, Brasil. Docente do Instituto de Engenharias e Desenvolvimento Sustentável. E-mail: aluisiomf@unilab.edu.br

principalmente para o composto 26, que apresentou apresentando valores de -7,5, destacando assim competitividade marcante do com o ligante de referência (Native). Os resultados obtidos poderão ser fundamentais para orientar avaliações *in vitro* e contribuir para a busca de novas drogas no tratamento de infecções causadas por essa cepa bacteriana. Este estudo representa um passo crucial na exploração das propriedades medicinais da *Melissa officinalis* L em face da crescente resistência antimicrobiana, fornecendo insights valiosos para potenciais aplicações terapêuticas.

Palavras-chave: Atividade antibacteriana; Bioinformática; Docking molecular; Fitoquímico.

ABSTRACT

The use of medicinal plants in the prevention and treatment of various diseases dates back to antiquity. *Melissa officinalis* L, popularly known as lemon balm, has emerged as a versatile plant widely used in traditional medicine to treat various conditions, from headaches to sleep problems. In addition, the plant finds application in the cosmetic industry and cooking due to its pleasant lemon aroma. However, the significant advance in drug discovery has not prevented the growing resistance of pathogenic microorganisms to antibiotics. Bacterial resistance substantially threatens public health, prompting researchers to seek out new compounds with inhibitory properties. *Klebsiella pneumoniae*, a Gram-negative bacterium commonly found in hospital settings, stands out as an antibiotic-resistant opportunistic pathogen, causing various infections, especially in immunodeficient patients. Essential oils (EOs) are volatile substances extracted from different parts of plants, such as leaves, flowers, and roots. These EOs have phytochemical and biological properties capable of combating microbial resistance. The essential oil of *Melissa officinalis* L is identified as having antioxidant, antitumor, antibacterial, antifungal, and anxiolytic properties, mainly due to its bioactive compounds. This work highlights the importance of bioinformatics and computational approaches, such as molecular docking, in the search for new drugs. In this context, the work aims to evaluate the antibacterial activity of volatile oil against *Klebsiella pneumoniae* through a study of coupling and molecular dynamics. The affinity energy results were significant for some of the selected compounds, particularly for compound 26, which exhibited values of -7.5, thereby highlighting its remarkable competitiveness with the reference ligand (Native). The results obtained may be

fundamental to guide in vitro evaluations and contribute to the search for new drugs to treat infections caused by this bacterial strain. This study represents a crucial step in exploring the medicinal properties of *Melissa officinalis L* in the face of growing antimicrobial resistance, providing valuable insights for potential therapeutic applications.

Keywords: Antibacterial activity; Bioinformatic, Molecular docking; Phytochemical.

1. INTRODUÇÃO

Desde a antiguidade, o homem viu a necessidade de recorrer a práticas que o livraria de determinadas doenças e sintomas, tendo crença e fazendo uso de plantas que têm a capacidade de prevenir e curar certas doenças devido os seus compostos farmacológicos bioativos (RÍOS; RECIO, 2005).

Dentre essas plantas tem a *Melissa officinalis* L, também conhecida por erva-cidreira, bálsamo de limão e tantos outros nomes a depender da região, é uma planta pertencente à família *Lamiaceae*, originária da região do Mediterrâneo Oriental, da Ásia Ocidental, do Leste do Cáucaso, Irã e Norte de África, mas que devido a sua fácil adaptação a variados climas e solos, as técnicas de cultivo são cultivadas em todo mundo (MIRAJ; RAFIEIAN-KOPAEI; KIANI, 2017; NOORUL BASAR; ZAMAN, 2013)

Na medicina tradicional, a planta é bastante usada no tratamento de dores de cabeça, epilepsia, úlceras e feridas, doenças do Sistema Nervoso Central, anemia, indigestão, nos problemas de insônia, entre outros; a planta também é usada na indústria de cosméticos e tem lugar na culinária devido ao seu aroma e sabor de limão (DASTMALCHI *et al.*, 2007; SHAKERI; SAHEBKAR; JAVADI, 2016).

Apesar do estudo e descoberta de medicamentos tenha dado um avanço significativo assim como vários medicamentos e fármacos tenham mostrado capacidade ou efeitos farmacológicos, nas últimas décadas a resistência de microrganismos patogênicos frente aos antibióticos têm levado os pesquisadores na busca de novos compostos com capacidade inibitória (KALI, 2015). Tal fato deve-se ao uso excessivo e indevido de antibióticos diante de enfermidades ou sintomas, em ambientes hospitalares e atividades agrícolas, ocasionando o surgimento de microrganismos geneticamente modificados e insensíveis (SOO XI YAP *et al.*, 2014). Um dos principais mecanismos de resistência bacteriana está associado a composição estrutural das paredes celulares das bactérias, especialmente o polímero de peptidoglicano, que pode ter 2 a 3 nm de espessura em bactérias Gram-negativas (um grupo que apresentam características específicas diante a técnica de coloração gram), o que condiciona o processo de absorção da droga (NAZZARO *et al.*, 2013)

A *Klebsiella pneumoniae* é uma bactéria Gram-negativa pertencente à família Enterobacteriaceae (ADEOLU *et al.*, 2016). Maioritariamente presente em ambientes hospitalares e na comunidade, as cepas de *K. pneumoniae* resistentes a antibióticos têm sido a

causa de muitas infecções do trato respiratório como pneumonia, rinoscleroma e rinite e entre outras, infecções do trato urinário e no sangue, principalmente em pacientes com imunodeficiência ou debilitados e sob uso de dispositivos médicos, uma vez que se trata de um patógeno oportunista (BRISSE *et al.*, 2009) (Figura 1). Diante dessa situação, que constitui uma ameaça clínica e de saúde pública (MAZZARIOL; BAZAJ; CORNAGLIA, 2017), várias pesquisas têm sido desenvolvidas com o objetivo de identificar e relatar os fitoquímicos presentes nos óleos essenciais (OEs) das plantas medicinais assim como suas atividades biológicas contra microrganismos resistentes a drogas (MONZOTE *et al.*, 2014).

Figura 1 – Microfotografia da *Klebsiella pneumoniae* revelando sua morfologia em forma de bastonete através de exame microscópico.



Fonte: Rawy *et al.* (2020)

Quando comparados aos demais derivados de plantas medicinais, os OEs, compostos voláteis que podem estar presentes em vários órgãos das plantas (folhas, caules, raízes, flores, sementes, entre outros) e amplamente empregados na medicina tradicional e na medicina clínica moderna, apresentam um perfil fitoquímico e atividades biológicas capazes de reverter a resistência dos microrganismos a drogas (ABDELLATIF *et al.*, 2014; FIRENZUOLI *et al.*, 2014; NAZZARO *et al.*, 2013). Estudos revelaram que o óleo essencial da *Melissa officinalis* L (OEMO) possui capacidade antioxidante (MEFTAHAZADE; SARGSYAN; MORADKHANI, 2009), antitumoral (DE SOUSA *et al.*, 2010), antibacteriana (EHSANI *et al.*, 2017), antifúngica (EL OUADI *et al.*, 2017; MENEZES *et al.*, 2015), atividade ansiolítica (STOJANOVIĆ *et al.*, 2022), entre outros.

Figura 2 – Folhas da espécie *Melissa officinalis* L.



Fonte: Schmidt (2021)

As atividades farmacológicas variadas da MO (*Melissa Officinalis*) devem-se aos principais compostos bioativos, muitos deles presentes no seu OE (ADINEE; PIRI; KARAMI, 2008; DE SOUSA *et al.*, 2010). Vários estudos descreveram a composição química do OEMO (óleo essencial da *Melissa Officinalis*) extraído de suas partes aéreas e flores; Ismael *et al.*, (2020) identificaram 22 compostos do OE extraído das flores da planta na região de Roraima (Brasil), destacando os terpenóides (geraniol 34,6%, neral 26,0%, cariofileno ou b-cariofileno 7,5%, óxido de cariofileno 5,3%, b-pinene 5,3% e sabinene 3,6%) como principais; um estudo sobre a composição química e atividade antimicrobiana do OEM realizado na Argélia relata um total de 36 compostos presentes no OE extraído das folhas da planta, sendo na sua maioria monoterpenos como neral (30,2 %), geranial (44,2 %) e citronelal (6,3 %), que constituem os principais compostos (ABDELLATIF *et al.*, 2014). Comumente, essas diferenças nos teores de composição química dos OEs devem-se a fatores ambientais, genéticos, técnicas de coletas, órgãos da planta e métodos de extração (BAJALAN; GHASEMI PIRBALOUTI, 2014; DANH *et al.*, 2013; GHASEMI PIRBALOUTI *et al.*, 2015).

Com o desenvolvimento da bioinformática (como a criação de softwares e a grande disponibilidade de bibliotecas de compostos), abordagens computacionais passaram a ser utilizadas no desenvolvimento de medicamentos, reduzindo os custos e o tempo de concessão de novos fármacos, recebendo a atenção grande de pesquisadores e indústrias farmacêuticas

em todo mundo (ALONSO; BLIZNYUK; GREASY, 2006; LIN; LI; LIN, 2020; RAO; SRINIVAS, 2011).

O desenvolvimento de métodos computacionais que permitem simular sistemas químicos a nível atômico-molecular tem acompanhado as principais tendências no desenvolvimento de novos materiais aplicados as mais diversas demandas tecnológicas. Entre os métodos *in silico* mais conhecido e de uso significativo temos o docking molecular, uma técnica que permite prever as ligações entre pequenas moléculas e o seu receptor (alvo biológico) ou ainda interações envolvendo apenas macromoléculas (proteína-proteína, por exemplo) fim de encontrar a melhor conformação possível, utilizando programas como DOCK, AUTODOCK, FlexX, GOLD, entre outros, sendo muito importante na descoberta de fármacos (ALONSO; BLIZNYUK; GREASY, 2006; PINZI; RASTELLI, 2019; PRIETO-MARTÍNEZ; ARCINIEGA; MEDINA-FRANCO, 2018).

Assim, a fim de conhecer a atividade antibacteriana do óleo essencial da *Melissa Officinalis* L através de um estudo de acoplamento molecular e dinamica molecular, o presente trabalho teve como objetivo conhecer/avaliar a atividade antibacteriana do OEMO contra *Klebsiella pneumoniae*, e por meio dos dados obtidos, será possível sugerir uma avaliação *in vitro* e uma contribuição para o conhecimento na busca de novas drogas que possam ser utilizados para o tratamento de infecções causadas por essa cepa bacteriana.

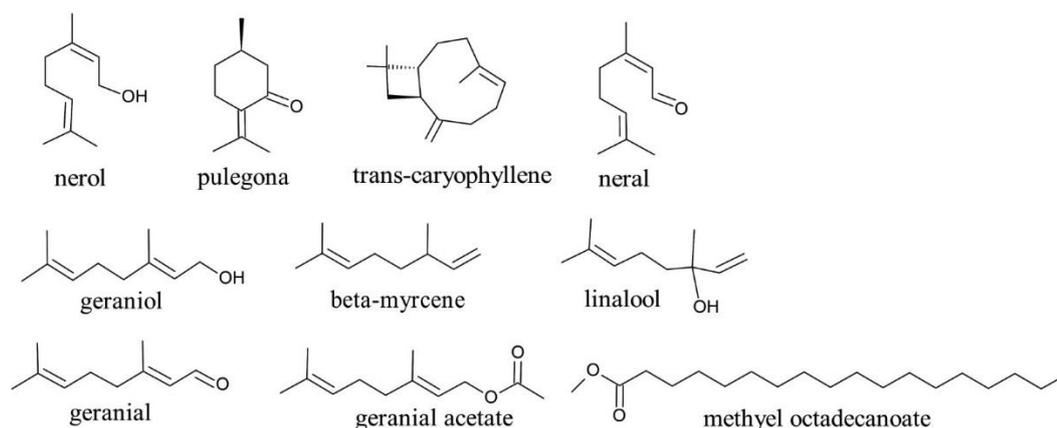
2. METODOLOGIA

2.1 Seleção, obtenção e preparo de ligantes

Neste estudo foram selecionadas dez (10) estruturas, além do ligante nativo, (Figura 3) com perfis farmacocinéticos ou propriedades químicas medicinais consideradas toleráveis através da regra dos cinco de Lipinski usando o servidor on-line SwissADME (<http://www.swissadme.ch/index.php0>), que permite prever tais propriedades farmacocinéticas filtrando os compostos potencialmente ativos (DAINA; MICHIELIN; ZOETE, 2017; GIMÉNEZ *et al.*, 2010). Além disso, foi baseado em estudos anteriores sobre a composição química e atividades biológicas dos derivados da planta que relataram eficácia antibacteriana dos compostos selecionados no presente estudo (MONTI *et al.*, 2002; SAYEED AKTHAR; DEGAGA; AZAM, 2014). As estruturas 2D e 3D dos ligantes foram obtidas no banco de dados Pubchem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>), nos formatos SDF, e, em seguida, convertida

em PDB no programa AutodockTools (versão 1.5.7) (Souza, 2022). A preparação dos ligantes foi feita com o comando `prepare_ligand4.py` do Autodock, que utiliza linguagem de programação orientada a objetos Python, realizando o dimensionamento e otimização estrutural, gerando assim estruturas 3D no formato `pdbqt` (MORRIS *et al.*, 2009).

Figura 2 – Estruturas 2D dos compostos químicos selecionados neste estudo desenhadas no software ACD/ChemSketch versão 2022 (<https://www.acdlabs.com/products/chemsketch/>).



Fonte: Autores (2023)

2.2 Obtenção e preparação do receptor

O receptor usado foi o complexo da *Klebsiella pneumoniae* LpxH-AZ1 (PDB ID: 6PIB), a sua estrutura 3D formato PDB foi baixada do banco de dados Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/>), uma biblioteca de estruturas obtidas pelas técnicas de raio X e espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) (DHORAJIWALA; HALDER; SAMANT, 2019). O processo de preparação da estrutura 3D da proteína resumiu-se na remoção das moléculas de água, adição dos hidrogênios polares e de cargas de Gosteriger usando a ferramenta AutoDockTools (versão 1.5.) e foi salvo no formato `pdbqt` (DA FONSECA *et al.*, 2023). As coordenadas do sítio ativo do receptor (X, Y, Z) foram determinadas baseando-se nos ligantes nativos da proteína usando a ferramenta Discovery Studio 2021 (versão 4.0); a caixa da grade foi definida de acordo aos valores das coordenadas obtidas do sítio ativo da 6PIB: centro $_X = -11.025806$, $Y = -36.564774$ e $Z = -4.881129$,

tamanhos: $_x = 20.0$, $_y = 20.0$, tamanho $_z = 20.0$, no software AutodockTools (PYLYPENKO et al., 2023; SEVERINA et al., 2021).

2.3 Avaliação *in silico* dos compostos selecionados e complexo da *Klebsiella pneumoniae* LpxH-AZ1 pelo método de Docking Molecular e visualização dos resultados

Após a seleção das moléculas seguida da obtenção em bancos de dados e a preparação das mesmas e da proteína alvo, o encaixe foi feito utilizando o comando run_vina.bat do software AutoDock Vina (<https://vina.scripps.edu/>) para prever a ligação entre as pequenas moléculas e o receptor (TROTT; OLSON, 2009). Os complexos resultantes do acoplamento molecular e as respectivas poses foram visualizadas usando o PyMOL (MUKHERJEE et al., 2023).

2.4 Análise estatística

Os resultados foram expressos como valores médios \pm erro padrão da média para cada grupo analisado. Após a confirmação da distribuição normal e homogeneidade dos dados, as diferenças entre os grupos foram submetidas à análise de variância (ANOVA de um fator) e ANOVA de dois fatores em experimentos com antagonistas (FUJIKOSHI, 1993), seguidas pelo teste de Tukey's (LIN; ZHANG, 2018). Todas as análises foram realizadas utilizando o software GraphPad Prism v.8.0. O nível de significância estatística foi estabelecido em 5% ($P < 0,05$).

2.5. Dinâmica Molecular

As simulações de dinâmica molecular (MD) foram realizadas com o programa NAMD (PHILLIPS et al., 2005). As melhores conformações obtidas no acoplamento molecular foram resolvidas em água no modelo TIP3P (KATO et al., 2021), no campo de força CHARMM36 e com a adição de íons para neutralizar a carga total do sistema. Por fim, o sistema foi orientado à minimização de energia pelo método do Descida mais Íngreme. O sistema foi então introduzido nos equilíbrios NVT e NPT sob condições descritas por Langevin (FARAGO, 2019). As simulações de produção do sistema foram realizadas com um tempo de 100 ns. O ligante nativo foi usado como um ligante de referência para analisar as interações do complexo formado. A qualidade das estruturas obtidas nas MDs (dinâmicas moleculares) foi avaliada usando os seguintes parâmetros com o NAMD:

- Energia Potencial (kcal/mol) (DIEZ *et al.*, 2014);
- Energia de Interação Proteína-Ligante (kcal/mol);
- A média do desvio quadrático das posições atômicas de proteínas, ligantes e distâncias entre eles (RMSD, Å);
- As ligações de hidrogênio foram avaliadas com o Visual Molecular Dynamics (VMD) (HUMPHREY; DALKE; SCHULTEN, 1996).
- A média da flutuação quadrática das distâncias mínimas entre proteínas e ligantes foi observada no MD (RMSF, Å) (ARSHIA *et al.*, 2021). Os gráficos foram gerados usando o programa Qtrace (LIMA *et al.*, 2012).

2.5.1. Cálculos de MM/GBSA

Com base no arquivo de log MD do software NAMD (PHILLIPS *et al.*, 2005), o MM/GBSA foi calculado pelo MolAICal (BAI *et al.*, 2021) e foi calculado pelas equações 1-3:

$$\Delta G_{\text{bind}} = \Delta H - T\Delta S \approx \Delta E_{\text{MM}} + \Delta G_{\text{sol}} - T\Delta S \quad \text{Eq. 1}$$

$$\Delta E_{\text{MM}} = \Delta E_{\text{internal}} + \Delta E_{\text{ele}} + \Delta E_{\text{vdw}} \quad \text{Eq. 2}$$

$$\Delta G_{\text{sol}} = \Delta G_{\text{GB}} + \Delta G_{\text{SA}} \quad \text{Eq. 3}$$

Onde ΔE_{MM} , ΔG_{sol} e $T\Delta S$ representam a energia MM (Mecânica Molecular) da fase gasosa, energia livre de solvatação (soma da contribuição polar ΔG_{GB} e contribuição apolar ΔG_{SA}) e entropia conformacional, respectivamente (GOHLKE; CASE, 2004; GOHLKE; KIEL; CASE, 2003). ΔE_{MM} contém energia de Van Der Waals ΔE_{vdw} , eletrostática ΔE_{ele} e $\Delta E_{\text{internal}}$ de ligação, ângulo e energias diédricas. Se não houver alterações estruturais induzidas pela ligação no processo de simulações MD, o cálculo da entropia pode ser omitido (DASGUPTA; MANDALAPARTHY; JAYARAM, 2017).

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1. Estudo *in silico*

Com base na docagem molecular realizada pelo Autodock Vina (TROTT; OLSON, 2010) foi possível verificar as energias de afinidade (kcal/mol) e correlacionar o desvio quadrático médio entre o receptor ligante (RMSD) contra a proteína LpxH-AZ1, especialmente

o 3,7-octadecanoic methyl ester (37), transcariophylene (Trans) e por fim, o 2,6-octadecanoic methyl ester (26), com energias de afinidade de -7,5 kcal/mol, -7,5 e -7,3 kcal/mol, respectivamente, evidenciando competitividade com o ligante de referência (Native), que se mostrou ainda como o mais estável, com energia de afinidade de -11.3 kcal/mol, como mostrado a Tabela 1.

Tabela 1 – Dados de energia de afinidade frente ao acoplamento molecular, aptidão drugscore e constante inibitória dos compostos

Compostos	Código PUBCHEM	ΔG (kcal/mol)	K_i (μM)	drugscore
2,6-octadecanoic methyl ester (26)	não encontrado	-7.3	4.43×10^{-6}	0.55
3,7-octadecanoic methyl ester (37)	não encontrado	-7.5	3.16×10^{-6}	0.55
linalool	CID6549	-6.6	1.44×10^{-5}	0.55
b-myrcene	CID31253	-6.2	2.84×10^{-5}	0.55
pullegone	CID442495	-6.8	1.03×10^{-5}	0.55
geraniol	CID637566	-6.8	1.03×10^{-5}	0.55
geranial	CID638011	-6.6	1.44×10^{-5}	0.55
neral	CID643779	-6.5	1.71×10^{-5}	0.55
nerol	CID643820	-6.8	1.03×10^{-5}	0.55
geranyl acetate	CID1549026	-7.2	5.24×10^{-6}	0.55
Transcariophylene (Trans)	CID5281515	-7.5	3.16×10^{-6}	0.55
ligand6pib	Native	-11.3	5.16×10^{-9}	0.55

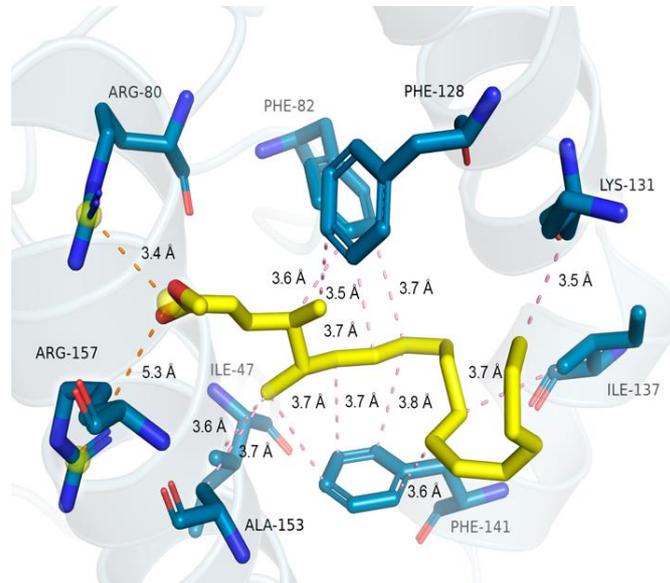
Fonte: Autores (2023)

3.1. Interações do Docking molecular

Os parâmetros de docking molecular, incluindo os resultados e interações ligante-proteína e pontes de hidrogênio para compostos selecionados e drogas de referência, estão fornecidos na Tabela 1. As possíveis interações com o sítio ativo da proteína LpxH-AZ1, neste experimento são observadas com detalhes nas figuras 4, 5, 6 e 7.

A Figura 4 representa o ligante nativo conhecido como 26 complexado com a proteína LpxH-AZ1, apresentando como principais interações do tipo alquila com os respectivos resíduos: Ala 153, Phe 141, Ile 137, Lys 131, Phe 128, Phe 82, Ile 47 e por fim interações mais fortes do tipo íon com os resíduos Arg 80 e Arg 157.

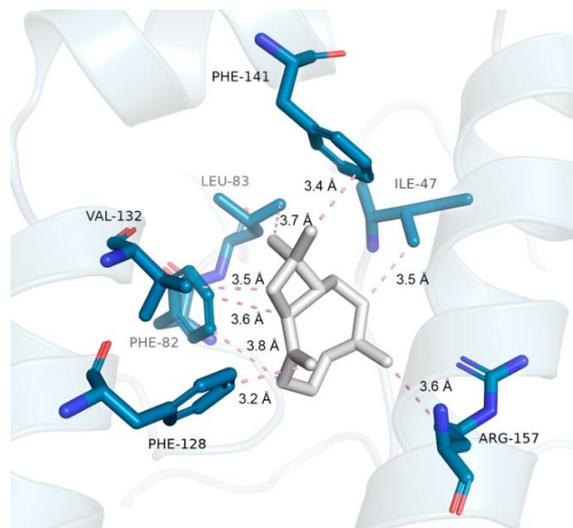
Figura 4 – Representações 3D das interações entre os ligantes com os resíduos de aminoácidos e o complexo 26/proteína, visualizados no PyMOL.



Fonte: Autores (2023)

A Figura 5 representou o complexo entre o Trans/proteína interagindo por meio de forças não covalentes do tipo alquila com os respectivos resíduos Arg 157, Ile 46, Phe 141, Leu 83, Val 132, Phe 80 e Phe 128.

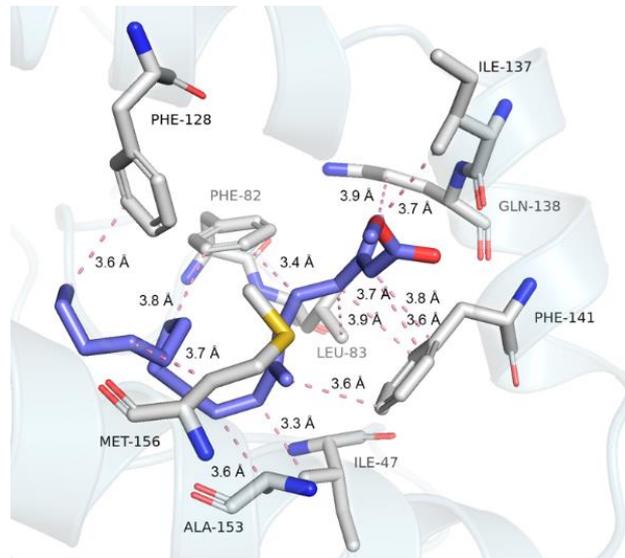
Figura 5. Representações 3D das interações entre os ligantes com os resíduos de aminoácidos e o complexo Trans/proteína, visualizados no PyMOL.



Fonte: Autores (2023)

A Figura 6 representou o complexo entre o 37/proteína interagindo por meio de forças não covalentes também do tipo alquila com os respectivos resíduos Met 156, Ala 153, Ile 47, Phe 141, Gln 138, Ile 137, Phe 128, e Phe 82.

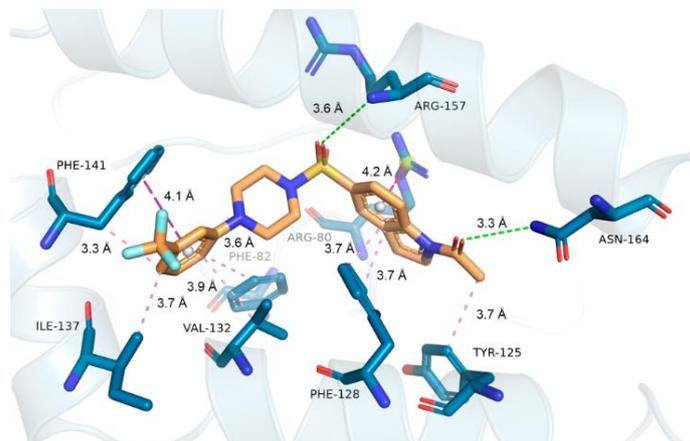
Figura 6 – Representações 3D das interações entre os ligantes com os resíduos de aminoácidos e o complexo 37/proteína, visualizados no PyMOL.



Fonte: Autores (2023)

Por fim, a Figura 7 representou o complexo entre o ligante nativo Native/proteína interagindo por meio de forças não covalentes também do tipo alquila com os respectivos resíduos Phe 141, Ile 137, Val 131, Phe 128, Tyr 125, Phe 82 e Val 132. Além dessas interações, foram observadas forte e moderadas ligações de hidrogênio com os resíduos Arg 157 e Asn 164, respectivamente, o que evidenciou este complexo como o mais estável do estudo teórico.

Figura 7 – Representações 3D das interações entre os ligantes com os resíduos de aminoácidos e o complexo NActive/proteína, visualizados no PyMOL.



Fonte: Autores (2023)

3.7. DINÂMICA MOLECULAR

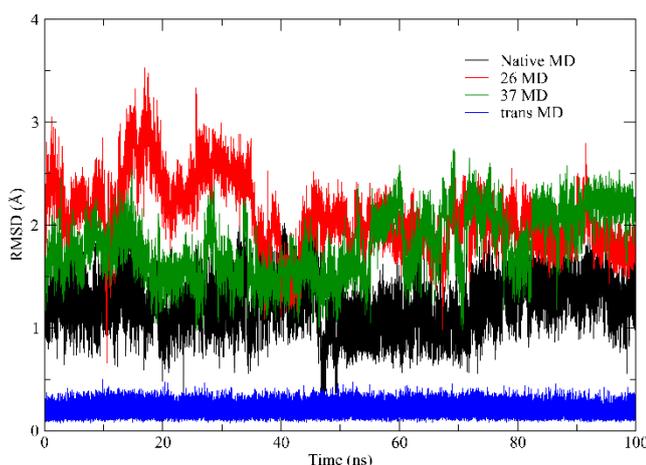
Um complexo proteína-ligante-solvente-íon pode representar um sistema termodinâmico composto de soluto e solvente. Nesse sistema, ocorrem interações de vários tipos (forças intermoleculares), além de trocas térmicas entre as moléculas e os íons presentes; assim, como ditam as leis da termodinâmica, a relação entre essas moléculas e como acontece a transferência de calor está relacionada a diversas mudanças energéticas (ARCON *et al.*, 2017; BERETTA, 2020; CHINAKA, 2021; STRUCHTRUP, 2020). A partir disso, simulações de dinâmica molecular foram realizadas com complexos proteína-ligante através de NAMD para avaliar possíveis mudanças conformacionais globais e estabilidade proteica após cada conformação e obter informações sobre o mecanismo de interação dos complexos em nível molecular (BYLEHN *et al.*, 2021; DU *et al.*, 2016).

3.7.1. Análise RMSD

O RMSD é calculado com base na medida da distância média entre os átomos dos dois ligantes, sendo os critérios de validação valores próximos a 2 Å (COUTSIAS; SEOK; DILL, 2004; COUTSIAS; WESTER, 2019; SARGSYAN; GRAUFFEL; LIM, 2017). Logo após o acoplamento molecular, foi realizado estudo de dinâmica molecular com o ligante nativo, o composto 26, 37 e o trans, de acordo com o sítio catalítico da proteína responsável da pneumonia (Figura 8). Observou-se que os valores médios de RMSD para todas as simulações de 100 ns nas etapas de produção foram muito variados, onde o transcariofileno (trans) ficou

com um valor médio abaixo de 1,0 Å. Já para os demais, o ligante nativo apresentou um valor médio em torno de 1,0-1,2 Å; para o composto 26 conseguiu se estabilizar em torno 35ns, com valor de 2,0 Å; e por fim, o composto 37, ficou em torno de 2,0 Å, em quase toda sua trajetória

Figure 8 – Desvio Quadrático Médio de Rotação (RMSD), referente à confirmação inicial do complexo ligante-enzima versus o tempo de simulação (ns) na etapa de simulação de produção do MD com 26/proteína (vermelho), ligante nativo/proteína (preto), trans/proteína (azul) e 37/proteína (verde).

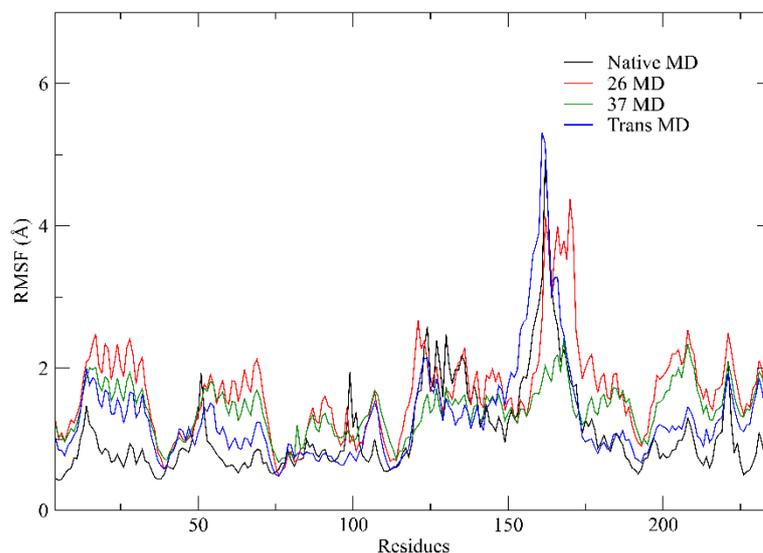


Fonte: Autores (2023)

3.7.2. Análise RMSF

O RMSF do sistema foi realizado para entender o deslocamento e a estabilidade de cada resíduo proteico na trajetória da simulação de 100ns. A Figura 9 se sobrepõe às principais interações dos principais complexos estudados. Assim, pode-se concluir que não houve alterações conformacionais significativas dos complexos durante os tempos de simulação. Os resultados sugerem que as trajetórias das simulações de dinâmica molecular após as etapas de produção apresentaram oscilações médias com correlações significativas com resíduos críticos na replicação (QIN; ZHONG; WANG, 2021; ROE; BROOKS, 2020). Inicialmente, ao analisar excepcionalmente apenas com valores maiores 4,0 Å para resíduos próximos ao intervalo 150-160. As conformações obtidas nas simulações MD foram complexadas com vários ligantes através de técnicas de acoplamento, gerando informações importantes sobre os modos de ligação de pequenas moléculas nos diferentes estados de enovelamento enzimático.

Figure 9 – Flutuação Quadrática Média de Rotação (RMSF), referente à conformação inicial do complexo ligante-proteína versus o tempo de simulação (ns) na etapa de simulações de produção da MD com ligante 26/proteína (vermelho), ligante nativo/proteína (preto), trans/proteína (azul) e 37/proteína (verde).



Fonte: Autores (2023)

3.7.3. Análise de ligações H

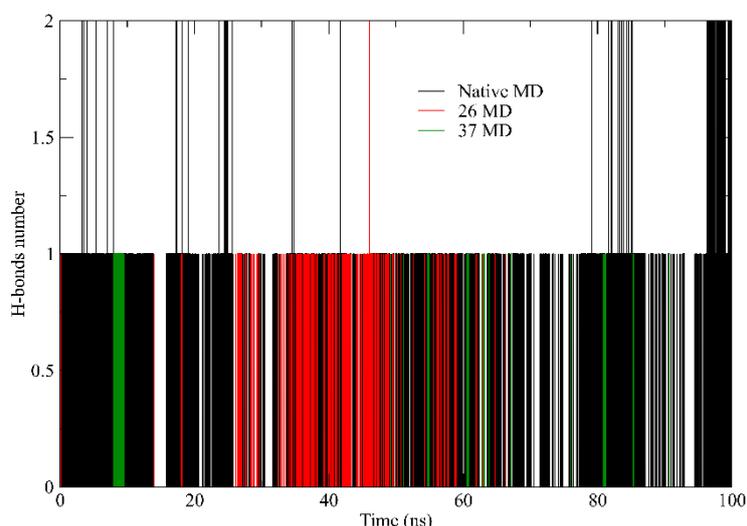
Como o objetivo de se gerar novos fármacos, o número de ligações de hidrogênio é essencial para verificar se um complexo atingiu a estabilidade em um sistema dinâmico (MASCOLI *et al.*, 2021; RAGUNATHAN; MALATHI; ANBARASU, 2018). Após os 100ns, foi possível verificar as ligações de hidrogênio formadas entre glicoproteína com seus respectivos ligantes simulados em longos estágios de produção em dinâmica molecular, na Figura 10. Durante a simulação, houve mudanças nas redes de ligação de hidrogênio, e o número de interações flutuou entre 1 ou 2 para a proteína, exceto o complexo formado entre trans e a proteína que não apresentou nenhuma interação de hidrogênio ao longo da trajetória da dinâmica molecular. Já no complexo da proteína com 26, as ligações de hidrogênio isoladas e o número médio fraco de apenas uma ligação de hidrogênio por período sugeriram que as redes de ligações de hidrogênio foram relativamente adequadas e mais fracas, formando conexões razoáveis durante sua trajetória. No complexo do 37, o número de ligações foi menor ainda durante a trajetória, com apenas uma ligação, mas bem menos que a anterior e por fim,

o complexo formado com ligante nativo, apresentou as melhores condições de interação se, comparadas com as demais estudada, porém foi mais efetivo com ligações fortes ou medianas.

O momento em que essas conexões estavam muito presentes sugeriu que essa interação manteve a estabilidade do complexo além do tamanho dos compostos e suas funcionalidades (QIN; ZHONG; WANG, 2021).

Portanto, correlações complementares podem ser observadas na comparação de ligações de hidrogênio formadas em dinâmica molecular com aquelas previamente obtidas pelo processo de acoplamento, indicando a convergência de um método estático para um processo de sistema contínuo.

Figura 10 – Ligações de hidrogênio formadas entre a proteína e o ligante durante as etapas de simulação.



Fonte: Autores (2023)

3.2. Cálculo de MM/GBSA

As energias da mecânica molecular combinadas (MM/GBSA) são consideradas das estimativas de energia livre *in silico* mais importantes em sistemas de pequenos ligantes com macromoléculas biológicas (GENHEDEN; RYDE, 2015). No entanto, eles são tipicamente baseados em simulações de dinâmica molecular do complexo receptor-ligante e são intermediários em precisão e esforço computacional entre pontuação empírica e distúrbio alquímico estrito (CHEN *et al.*, 2018).

Com base em suas energias livres, os complexos formados pelos ligantes 26/proteína, 37/proteína, Trans/proteína e Native/proteína apresentaram os melhores resultados, com valores em torno de -31,87 kcal/mol; -28,63 kcal/mol; e -18.02 kcal/mol, respectivamente, comparados ao complexo formado pelo ligante de referência (Native/Proteína), que apresentou valor de -130.78 kcal/mol. Portanto, a técnica de decomposição da energia de interação revelou a contribuição do complexo ligante-receptor e sua energia final definida na Tabela 2.

Tabela 2 – Dados de estimativa de energia livre da composição do óleo essencial contra a LpxH-AZ1.

Complexos	ΔG_{SA} (kcal/mol)	$\Delta E_{ele} + \Delta G_{sol}$ (kcal/mol)	$\Delta E_{vdW} + \Delta G_{sol}$ (kcal/mol)	ΔG_{bind} (kcal/mol)
37/Proteína	-8.46	14.68	-46.55	-31.87 +/- 0.0087
26/Proteína	-7.63	16.26	-44.89	-28.63 +/- 0.0104
Trans/Proteína	-7.27	7.22	-25.24	-18.02 +/- 0.0093
Ligante nativo/Proteína	-7.27	-35.87	-24.82	-130.78 +/- 0.0161

Fonte: Autores (2023)

CONCLUSÃO

O estudo *in silico*, baseado na análise fitoquímica do óleo essencial da espécie *Melissa officinalis* permitiu a caracterização de 10 compostos baseados na literatura prévia. Os principais constituintes que apresentaram maior afinidade de energia no docking molecular foram o 26, 37, e o Trans em comparação com o ligante nativo co-cristalizado obtido pelo repositório virtual. As simulações de docking e dinâmica molecular destacaram esses complexos formados por 37/LpxH-AZ1, 26/LpxH-AZ1, Trans/LpxH-AZ1 e por fim o Native/LpxH-AZ1, que apresentaram as melhores energias de ligação em dinâmica molecular com estimativa de energia livre de -31,87 kcal/mol; -28,63 kcal/mol; -18.02 kcal/mol, e -130.78 kcal/mol, respectivamente. Além disso, a competição do composto 37 com o ligante nativo, frente a proteína responsável pela replicação da pneumonia, LpxH-AZ1 foi moderada, inclusive na interação com os principais resíduos de ativação do sítio proteico, sugerindo que estes compostos apresentaram potencial para o desenvolvimento de novos compostos para aplicações terapêuticas em infecções bacterianas.

REFERÊNCIAS

ABDELLATIF, F.; BOUDJELLA, H.; ZITOUNI, A.; HASSANI, A. **MELISSA OFFICINALIS LEXCLI Journal**. [s.l: s.n.].

ADEOLU, M.; ALNAJAR, S.; NAUSHAD, S.; GUPTA, R. S. Genome-based phylogeny and taxonomy of the ‘Enterobacteriales’: Proposal for enterobacterales ord. nov. divided into the families Enterobacteriaceae, Erwiniaceae fam. nov., Pectobacteriaceae fam. nov., Yersiniaceae fam. nov., Hafniaceae fam. nov., Morganellaceae fam. nov., and Budviciaceae fam. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 66, n. 12, p. 5575–5599, 1 dez. 2016.

ADINEE, J.; PIRI, K.; KARAMI, O. Essential oil component in flower of lemon balm (*Melissa officinalis* L.). **American Journal of Biochemistry and Biotechnology**, v. 4, n. 3, p. 277–278, 2008.

ALONSO, H.; BLIZNYUK, A. A.; GREASY, J. E. **Combining docking and molecular dynamic simulations in drug design** *Medicinal Research Reviews* set. 2006.

ARCON, J. P.; DEFELIPE, L. A.; MODENUTTI, C. P.; LÓPEZ, E. D.; ALVAREZ-GARCIA, D.; BARRIL, X.; TURJANSKI, A. G.; MARTÍ, M. A. Molecular dynamics in mixed solvents reveals protein–ligand interactions, improves docking, and allows accurate binding free energy predictions. **Journal of chemical information and modeling**, v. 57, n. 4, p. 846–863, 2017.

ARSHIA, A. H.; SHADRAVAN, S.; SOLHJOO, A.; SAKHTEMAN, A.; SAMI, A. De novo design of novel protease inhibitor candidates in the treatment of SARS-CoV-2 using deep learning, docking, and molecular dynamic simulations. **Computers in Biology and Medicine**, v. 139, 2021.

BAI, Q.; TAN, S.; XU, T.; LIU, H.; HUANG, J.; YAO, X. MolAICal: a soft tool for 3D drug design of protein targets by artificial intelligence and classical algorithm. **Briefings in bioinformatics**, v. 22, n. 3, p. 1–12, 2021.

BAJALAN, I.; GHASEMI PIRBALOUTI, A. Variation in antibacterial activity and chemical compositions of essential oil from different populations of myrtle. **Industrial Crops and Products**, v. 61, p. 303–307, 2014. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669014004567>>.

BERETTA, G. P. The fourth law of thermodynamics: steepest entropy ascent. **Philosophical Transactions of the Royal Society A**, v. 378, n. 2170, p. 20190168, 2020.

BRISSE, S.; FEVRE, C.; PASSET, V.; ISSENHUTH-JEANJEAN, S.; TOURNEBIZE, R.; DIANCOURT, L.; GRIMONT, P. Virulent clones of *Klebsiella pneumoniae*: Identification and evolutionary scenario based on genomic and phenotypic characterization. **PLoS ONE**, v. 4, n. 3, 25 mar. 2009.

BYLEHN, F.; MENENDEZ, C. A.; PEREZ-LEMUS, G. R.; ALVARADO, W.; DE PABLO, J. J. Modeling the binding mechanism of remdesivir, favilavir, and ribavirin to SARS-CoV-2 RNA-dependent RNA polymerase. **ACS central science**, v. 7, n. 1, p. 164–174, 2021.

CHEN, F.; SUN, H.; WANG, J.; ZHU, F.; LIU, H.; WANG, Z.; LEI, T.; LI, Y.; HOU, T. Assessing the performance of MM/PBSA and MM/GBSA methods. 8. Predicting binding free energies and poses of protein–RNA complexes. **Rna**, v. 24, n. 9, p. 1183–1194, 2018.

CHINAKA, T. W. Introducing the Second Law of Thermodynamics Using Legitimation Code Theory among First Year Chemistry Students. **Cypriot Journal of Educational Sciences**, v. 16, n. 3, p. 981–994, 2021.

COUTSIAS, E. A.; SEOK, C.; DILL, K. A. Using quaternions to calculate RMSD. **Journal of Computational Chemistry**, v. 25, n. 15, 2004.

COUTSIAS, E. A.; WESTER, M. J. RMSD and Symmetry. **Journal of Computational Chemistry**, v. 40, n. 15, p. 1496–1508, 2019.

DA FONSECA, A. M.; CALUACO, B. J.; MADUREIRA, J. M. C.; CABONGO, S. Q.; GAIETA, E. M.; DJATA, F.; COLARES, R. P.; NETO, M. M.; FERNANDES, C. F. C.; MARINHO, G. S.; DOS SANTOS, H. S.; MARINHO, E. S. Screening of Potential Inhibitors Targeting the Main Protease Structure of SARS-CoV-2 via Molecular Docking, and Approach with Molecular Dynamics, RMSD, RMSF, H-Bond, SASA and MMGBSA. **Molecular Biotechnology**, 2023. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s12033-023-00831-x>>.

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, 3 mar. 2017.

DANH, L. T.; HAN, L. N.; TRIET, N. D. A.; ZHAO, J.; MAMMUCARI, R.; FOSTER, N. Comparison of Chemical Composition, Antioxidant and Antimicrobial Activity of Lavender (*Lavandula angustifolia* L.) Essential Oils Extracted by Supercritical CO₂, Hexane and Hydrodistillation. **Food and Bioprocess Technology**, v.6, n. 12, p. 3481–3489, dez. 2013.

DASGUPTA, D.; MANDALAPARTHY, V.; JAYARAM, B. A component analysis of the free energies of folding of 35 proteins: A consensus view on the thermodynamics of folding at the molecular level. **Journal of Computational Chemistry**, v. 38, n. 32, p. 2791–2801, 15 dez. 2017.

DASTMALCHI, K.; DAMIEN DORMAN, H. J.; KOŞAR, M.; HILTUNEN, R. Chemical composition and in vitro antioxidant evaluation of a water-soluble Moldavian balm (*Dracocephalum moldavica* L.) extract. **LWT**, v. 40, n. 2, p. 239–248, 2007.

DE SOUSA, A. C.; ALVIANO, D. S.; BLANK, A. F.; ALVES, P. B.; ALVIANO, C. S.; GATTASS, C. R. Melissa officinalis L. essential oil: antitumoral and antioxidant activities . **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 56, n. 5, p. 677–681, 18 fev. 2010.

DHORAJIWALA, T. M.; HALDER, S. T.; SAMANT, L. Comparative in silico molecular docking analysis of l-threonine-3-dehydrogenase, a protein target against African trypanosomiasis using selected phytochemicals. **Journal of Applied Biotechnology Reports**, v. 6, n. 3, p. 101–108, 1 jun. 2019.

DIEZ, M.; PETUYA, V.; MARTÍNEZ-CRUZ, L. A.; HERNÁNDEZ, A. Insights into mechanism kinematics for protein motion simulation. **BMC Bioinformatics**, v. 15, n. 1, 2014.

DU, X.; LI, Y.; XIA, Y.-L.; AI, S.-M.; LIANG, J.; SANG, P.; JI, X.-L.; LIU, S.-Q. Insights into protein–ligand interactions: mechanisms, models, and methods. **International journal of molecular sciences**, v. 17, n. 2, p. 144, 2016.

EHSANI, A.; ALIZADEH, O.; HASHEMI, M.; AFSHARI, A.; AMINZARE, M.; DVM, M. H. **Phytochemical, antioxidant and antibacterial properties of Melissa officinalis and Dracocephalum moldavica essential oils**ARTICLE **Veterinary Research Forum**. [s.l.: s.n.].

EL OUADI, Y.; MANSSOURI, M.; BOUYANZER, A.; MAJIDI, L.; BENDAIF, H.; ELMSELLEM, H.; SHARIATI, M. A.; MELHAOUI, A.; HAMMOUTI, B. Essential oil composition and antifungal activity of *Melissa officinalis* originating from north-Est Morocco, against postharvest phytopathogenic fungi in apples. **Microbial Pathogenesis**, v. 107, p. 321–326, 1 jun. 2017.

FARAGO, O. Langevin thermostat for robust configurational and kinetic sampling. **Physica A: Statistical Mechanics and its Applications**, v. 534, n. 122210, 2019.

FIRENZUOLI, F.; JAITAK, V.; HORVATH, G.; BASSOLÉ, I. H. N.; SETZER, W. N.; GORI, L. **Essential oils: New perspectives in human health and wellness**Evidence-based **Complementary and Alternative Medicine**Hindawi Publishing Corporation, 2014.

FUJIKOSHI, Y. Two-way ANOVA models with unbalanced data. **Discrete Mathematics**, v. 116, n. 1–3, p. 315–334, 1993.

GENHEDEN, S.; RYDE, U. The MM/PBSA and MM/GBSA methods to estimate ligand-binding affinities. **Expert opinion on drug discovery**, v. 10, n. 5, p. 449–461, 2015.

GHASEMI PIRBALOUTI, A.; GHAHFAROKHI, B. B.; GHAHFAROKHI, S. A. M.; MALEKPOOR, F. Chemical composition of essential oils from the aerial parts and underground parts of Iranian valerian collected from different natural habitats. **Industrial Crops and Products**, v. 63, p. 147–151, 1 jan. 2015.

GIMÉNEZ, B. G.; SANTOS, M. S.; FERRARINI, M.; DOS SANTOS FERNANDES, J. P. Evaluation of blockbuster drugs under the rule-of-five. **Pharmazie**, v. 65, n. 2, p. 148–152, fev. 2010.

GOHLKE, H.; CASE, D. A. Converging Free Energy Estimates: MM-PB(GB)SA Studies on the Protein-Protein Complex Ras-Raf. **Journal of Computational Chemistry**, v. 25, n. 2, p. 238–250, 2004.

GOHLKE, H.; KIEL, C.; CASE, D. A. Insights into protein-protein binding by binding free energy calculation and free energy decomposition for the Ras-Raf and Ras-RalGDS complexes. **Journal of molecular biology**, v. 330, n. 4, p. 891–913, 2003.

GUANAMBI, Souza, Raquel Carvalho de. “Avaliação in silico por docking molecular da atividade de compostos da cagaita (*eugenia dysenterica*) sobre a proteína 1 relacionada à tirosinase (trp1).” (2022). [s.l: s.n.].

HUMPHREY, W.; DALKE, A.; SCHULTEN, K. VMD: Visual molecular dynamics. **Journal of Molecular Graphics**, v. 14, n. 1, p. 33–38, 1996.

ISMAEL, M. F.; PEDRO, R. E. R.; SELVIN, A. S. M.; VANY, P. F.; RICARDO, S. A.; JHUNIOR, A. M. F.; LUIS, A. B. A. Chemical composition of essential oil of *Melissa officinalis* L. and antioxidant activity from Boa Vista-RR, Brazil. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 14, n. 3, p. 41–45, 30 abr. 2020.

KALI, A. **Antibiotics and bioactive natural products in treatment of methicillin resistant Staphylococcus aureus: A brief review** Pharmacognosy Reviews Medknow Publications, 1 jan. 2015.

KATO, K.; NAKAYOSHI, T.; KURIMOTO, E.; ODA, A. Molecular dynamics simulations for the protein–ligand complex structures obtained by computational docking studies using implicit or explicit solvents. **Chemical Physics Letters**, v. 781, n. 139022, 2021.

LIMA, A. H.; SOUZA, P. R. M.; ALENCAR, N.; LAMEIRA, J.; GOVENDER, T.; KRUGER, H. G.; MAGUIRE, G. E. M.; ALVES, C. N. Molecular Modeling of *T. rangeli*, *T. brucei gambiense*, and *T. evansi* Sialidases in Complex with the DANA Inhibitor. **Chemical Biology and Drug Design**, v. 80, n. 1, p. 114–120, 2012.

LIN, C. K.; ZHANG, J. Detecting Nonadditivity in Single-Facet Generalizability Theory Applications: Tukey’s Test. **Journal of Educational Measurement**, v. 55, n. 1, p. 78–89, 2018.

LIN, X.; LI, X.; LIN, X. **A review on applications of computational methods in drug screening and design** Molecules MDPI AG, 2020.

MASCOLI, V.; LIGUORI, N.; CUPELLINI, L.; ELIAS, E.; MENNUCCI, B.; CROCE, R. Uncovering the interactions driving carotenoid binding in light-harvesting complexes. **Chemical Science**, v. 12, n. 14, p. 5113–5122, 2021.

MAZZARIOL, A.; BAZAJ, A.; CORNAGLIA, G. Multi-drug-resistant Gram-negative bacteria causing urinary tract infections: a review. **Journal of Chemotherapy**, v. 29, p. 2–9, 22 dez. 2017.

MEFTAHIZADE, H.; SARGSYAN, E.; MORADKHANI, H. **Investigation of antioxidant capacity of *Melissa officinalis* L. essential oils** GUAR GUM View project optimization of sucrose concentration at cell suspension culture of *Melissa Officinalis* L. View

projectArticle in Journal of Medicinal Plants Research. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<https://www.researchgate.net/publication/268341783>>.

MENEZES, C.; GUERRA, F.; PINHEIRO, L.; TRAJANO, V.; PEREIRA, F.; SOUZA, V.; SOUZA, F.; LIMA, E. Investigation of *Melissa officinalis* L. Essential Oil for Antifungal Activity against *Cladosporium carrionii*. **International Journal of TROPICAL DISEASE & Health**, v. 8, n. 2, p. 49–56, 10 jan. 2015.

MIRAJ, S.; RAFIEIAN-KOPAEI; KIANI, S. *Melissa officinalis* L: A Review Study With an Antioxidant Prospective. **Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine**, v. 22, n. 3, p. 385–394, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1177/2156587216663433>>.

MONTI, D.; CHETONI, P.; BURGALASSI, S.; NAJARRO, M.; FABRIZIO SAETTONE, M.; BOLDRINI, E. **Effect of different terpene-containing essential oils on permeation of estradiol through hairless mouse skin***International Journal of Pharmaceutics*. [s.l: s.n.]. Disponível em: <www.elsevier.com/locate/ijpharm>.

MONZOTE, L.; GARCÍA, M.; SCULL, R.; CUELLAR, A.; SETZER, W. N. Antileishmanial activity of the essential oil from *Bixa orellana*. **Phytotherapy Research**, v. 28, n. 5, p. 753–758, 2014.

MORRIS, G. M.; RUTH, H.; LINDSTROM, W.; SANNER, M. F.; BELEW, R. K.; GOODSSELL, D. S.; OLSON, A. J. Software news and updates AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. **Journal of Computational Chemistry**, v. 30, n. 16, p. 2785–2791, dez. 2009.

MUKHERJEE, A.; PANDEY, K. M.; OJHA, K. K.; SAHU, S. K. Identification of possible SARS-CoV-2 main protease inhibitors: in silico molecular docking and dynamic simulation studies. **Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 12, n. 1, 1 dez. 2023.

NAZZARO, F.; FRATIANNI, F.; DE MARTINO, L.; COPPOLA, R.; DE FEO, V. **Effect of essential oils on pathogenic bacteria***Pharmaceutics*MDPI AG, 25 nov. 2013.

NOORUL BASAR, S.; ZAMAN, R. **An Overview of Badranjboya (*Melissa officinalis*)***International Research Journal of Biological Sciences*. [s.l: s.n.]. Disponível em: <www.isca.me>.

PHILLIPS, J. C.; BRAUN, R.; WANG, W.; GUMBART, J.; TAJKHORSHID, E.; VILLA, E.; CHIPOT, C.; SKEEL, R. D.; KALÉ, L.; SCHULTEN, K. Scalable molecular dynamics with NAMD. **Journal of Computational Chemistry**, v. 26, n. 16, p. 1781–1802, 2005.

PINZI, L.; RASTELLI, G. **Molecular docking: Shifting paradigms in drug discovery***International Journal of Molecular Sciences*MDPI AG, 1 set. 2019.

PRIETO-MARTÍNEZ, F. D.; ARCINIEGA, M.; MEDINA-FRANCO, J. L. Acoplamiento Molecular: Avances Recientes y Retos. **TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas**, v. 21, 4 maio 2018.

PYLYPENKO, Olena O. et al. SEARCH FOR NEW TYROSINE KINASE INHIBITORS AMONG 2-(3-R-1H-1, 2, 4-TRIAZOL-5-YL) ANILINES AS POTENTIAL ANTITUMOR AGENTS USING MOLECULAR DOCKING. **Journal of Chemistry and Technologies**, v. 31, n. 2, p. 419-429, 2023. Disponível em: <<http://chemistry.dnu.dp.ua>>.

QIN, X.; ZHONG, J.; WANG, Y. A mutant T1 lipase homology modeling, and its molecular docking and molecular dynamics simulation with fatty acids. **Journal of Biotechnology**, v. 337, p. 24–34, 2021.

RAGUNATHAN, A.; MALATHI, K.; ANBARASU, A. MurB as a target in an alternative approach to tackle the *Vibrio cholerae* resistance using molecular docking and simulation study. **Journal of Cellular Biochemistry**, v. 119, n. 2, p. 1726–1732, 2018.

RAO, V. S.; SRINIVAS, K. Modern drug discovery process: An in silico approach. **Journal of Bioinformatics and Sequence Analysis**, v. 2, n. 5, p. 89–94, 2011. Disponível em: <<http://www.academicjournals.org/JBSA>>.

RAWY, D. K.; EL-MOKHTAR, M. A.; HEMIDA, S. K.; ASKORA, A.; YOUSEF, N. Isolation, characterization and identification of *Klebsiella pneumoniae* from assiut university hospital and sewage water in assiut governorate, Egypt. **Assiut Univ J Botany Microbiol**, v. 49, n. 2, p. 60–76, 2020.

RÍOS, J. L.; RECIO, M. C. Medicinal plants and antimicrobial activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 100, n. 1, p. 80–84, 2005. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874105003247>>.

ROE, D. R.; BROOKS, B. R. A protocol for preparing explicitly solvated systems for stable molecular dynamics simulations. **The Journal of Chemical Physics**, v. 153, n. 5, 2020.

SARGSYAN, K.; GRAUFFEL, C.; LIM, C. How Molecular Size Impacts RMSD Applications in Molecular Dynamics Simulations. **Journal of Chemical Theory and Computation**, v. 13, n. 4, p. 1518–1524, 2017.

SAYEED AKTHAR, M.; DEGAGA, B.; AZAM, T. Antimicrobial activity of essential oils extracted from medicinal plants against the pathogenic microorganisms: A review. **Issues in Biological Sciences and Pharmaceutical Research**, v. 2, n. 1, p. 1–007, 2014. Disponível em: <<http://www.journalissues.org/IBSPR/>>.

SCHMIDT, V. **Lemon Balm**. 2021. Disponível em: <<https://www.mygarden.com/plants/lemon-balm/>>

SEVERINA, H. I.; VLASOV, S. V; PROKOPENKO, Y. S.; GEORGIYANTS, V. A. **International scientific-practical symposium “100 YEARS OF SUCCESS AND QUALITY”, dedicated to the 100 th anniversary Affinity prediction of perspective**

anticonvulsant API to human adenosine receptors. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>>.

SHAKERI, A.; SAHEBKAR, A.; JAVADI, B. **Melissa officinalis L. - A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology** *Journal of Ethnopharmacology* Elsevier Ireland Ltd, 21 jul. 2016.

SOO XI YAP, P.; CHIN YIAP, B.; CAI PING, H.; HUA ERIN LIM, S. **Send Orders for Reprints to reprints@benthamscience.net Essential Oils, A New Horizon in Combating Bacterial Antibiotic Resistance** *The Open Microbiology Journal*. [s.l: s.n.].

STOJANOVIĆ, N. M.; MLADENOVIĆ, M. Z.; MASLOVARIĆ, A.; STOJILJKOVIĆ, N. I.; RANDJELOVIĆ, P. J.; RADULOVIĆ, N. S. Lemon balm (*Melissa officinalis* L.) essential oil and citronellal modulate anxiety-related symptoms – In vitro and in vivo studies. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 284, 10 fev. 2022.

STRUCHTRUP, H. Entropy and the Second Law of Thermodynamics—The Nonequilibrium Perspective. **Entropy**, v. 22, n. 7, p. 793, 2020.

TROTT, O.; OLSON, A. J. AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. **Journal of Computational Chemistry**, p. NA-NA, 2009.

TROTT, O.; OLSON, A. J. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. **Journal of computational chemistry**, v. 31, n. 2, p. 455–461, 2010.