

Avaliação *in silico* do risco de toxicidade do – citronelol

Daniele de Figuerêdo Silva¹; Cássio Ilan Soares Medeiros¹; Abrahão Alves de Oliveira Filho²

¹Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa-PB, Brasil danielefigueredo31@gmail.com,

cassioism@hotmail.com, ² Universidade Federal de Campina Grande, Patos-PB, Brasil

abraham.farm@gmail.com

Resumo: Os monoterpenos são responsáveis por uma gama de atividades biológicas que chamam atenção para aplicações clínicas. O -citronelol monoterpenoide revelam ter propriedades antifúngicas contra fungos leveduriforme e filamentosos que despertam o interesse no desenvolvimento de um novo antifúngico, no entanto pouco é conhecido sobre seu potencial tóxico. Diante dessas premissas, buscou-se avaliar *in silico* os riscos de toxicidade do -citronelol. No estudo foi observada ausência de efeito mutagênico e tumorigênico, mas em contrapartida potencial irritante e danos ao sistema reprodutor foram revelados como possíveis efeitos toxicológicos severos a este monoterpeno. Esse perfil toxicológico variado sugere então, a necessidade em avaliar o risco-benefício desse composto na produção de novo medicamento antifúngico, por realização de ensaios pré-clínicos e clínicos.

Palavra-chave: *Monoterpenos, – citronelol, potencial tóxico, in silico*

Introdução

Os terpenos constituem a maior classe de produtos naturais com mais de 55.000 compostos conhecidos (CHANG et al., 2010); que são categorizados em subclasses segundo a quantidade de unidades isoprênicas existente na sua estrutura molecular (BAKALLI et al., 2008).

Os monoterpenos constituintes mais frequentemente encontrados em óleos essenciais de plantas aromáticas (BAKALLI et al., 2008), são responsáveis por uma gama de atividades biológicas (PADUCH et al., 2007), que chamam atenção crescente para aplicações clínicas. Como exemplo, a atividade antifúngica revelada contra cepas de *Candida albicans* e *Trichophyton rubrum* (TAMPIERE et al., 2005; PEREIRA et al. 2014), pelo o

monoterpenoide -citronelol, fitoconstituente dos óleos essenciais de plantas medicinais como *Lippia alba* (erva-cidreira-de-busto) (TAVARES et al., 2005) e *Eucalyptos citriodora* (eucalipto) (OLIVERO-VERBEL; NERIO; STASHENKO, 2010), desperta o interesse ao desenvolvimento de um possível novo antifúngico.

Embora os produtos naturais sejam conhecidos como produtor de efeitos benéficos, no entanto, não pode-se afirmar que estes sejam livres de efeitos indesejáveis, uma vez, que muitos compostos ativos de plantas podem provocar toxicidade quando em contato com organismos vivos (MENGUE; MENTZ; SCHENKEL, 2001).

Dessa forma, promover um balanço entre propriedades farmacológicas *versus* toxicológicas de substâncias moleculares

torna-se importante. Nesse contexto, ferramentas assistidas por computadores (*in silico*) são aliados no estudo de características farmacocinéticas e toxicológicas de moléculas no meio metabólico de mamíferos (MARCHANT, 2012).

Assim, sabendo que o -citronelol tem atividade antifúngica e pode desenvolver efeitos tóxicos, este estudo tem como intuito de avaliar o seu potencial mutagênico, tumoral, irritante e as alterações sobre o sistema reprodutor por abordagem *in silico*, comparando os resultados com o padrão farmacológico utilizado na terapêutica de infecções fúngicas: anfotericina B, cetoconazol, clotrimazol, fluconazol, itraconazol, miconazol e nistatina.

Metodologia

Obtenção das informações químicas do - citronelol

Para a realização do estudo *in silico*, todas as informações químicas (estrutura química da molécula, massa molecular, polaridade, CAS-number) do - citronelol monoterpeneoide foram obtidas no site <http://www.chemspider.com/>.

Análise *in silico* da toxicidade e dos parâmetros farmacocinéticos

Para a análise da toxicidade teórica, a estrutura química do - citronelol foi submetida ao estudo *in silico* dos parâmetros ADMET (absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade) pelo o emprego do programa Osiris Property Explorer (<http://www.organic-chemistry.org/prog/peo/drugScore.html>).

Nesta análise foram determinados os potenciais efeitos: mutagênico, tumorigênico, irritante e sobre a reprodução (ABREU, 2008).

Análise dos dados

Para a análise dos dados obtidos no estudo e para construção dos gráficos utilizou-se o software Microsoft excel® versão 2013. Nesta análise os resultados foram classificados de acordo com uma escala de 1 a 3, onde: 1 significa toxicidade ausente, 2 toxicidade moderada e 3 toxicidade severa.

Resultados e discussão

Os resultados para o efeito mutagênico de - citronelol (**Gráfico 1**), mostra que este não apresentou potencial mutagênico, assim como os demais antifúngicos, com exceção de itraconazol que revelou mutagenicidade severa.

Dados antimutagênicos ao - citronelol são desconhecidos. No entanto, habilidades antioxidantes já foram

relatadas pelo ensaio de eliminação ao radical DPPH (1,1-difenil 2-picrilhidrazil), radical hidroxilo (OH) e superóxido (O₂⁻) (SINGH et al., 2009; JAGDALE et al., 2015); e dessa forma, o fato deste ser um sequestrador de radicais livres, faz inferir que também possa ser capaz de impedir a ação de agentes genotóxicos provocadores de mutações no DNA. Por conseguinte, reflete, quanto ao *in silico*, demonstrar segurança ao uso deste composto como droga em relação a futuros danos sobre o DNA celular.

Quanto ao resultado negativo revelado ao itraconazol, pelo seu potencial efeito mutagênico, vê-se que as previsões de toxicidade pelo teste de AMES, evidenciadas no Drugbank também corroboram (DRUGBANK, 2014). O fato deste ser uma droga comercializada e escalada para o tratamento de infecções fúngicas a mais de 25 anos; não impede por meio de estudos *in silico* de toxicidade, a evidenciação de algum fragmento ou núcleo estrutural reconhecido como subestrutura de compostos nocivos, ou faça parte dos 12% de fragmentos de medicamentos comercializados reconhecidos com potencial mutagênico no seu acervo de dados (OSIRIS, 2014). Assim, essa máxima, direciona a outra visão, quanto seria apropriado re-testes

para avaliação de riscos mutagênicos, cancerígenos entre outros, de medicamentos aos seres humanos, uma vez, que são escassos estudos epidemiológicos que possam contribuir para um maior embasamento do perfil de toxicidade para os produtos farmacêuticos (BRAMBILLA; MARTELLI, 2009).

Com relação ao potencial tumorigênico, é possível observar através dos dados expostos no **Gráfico 2**, que o - citronelol não possui nenhum efeito tumorigênico, como os demais antifúngicos, exceto novamente ao itraconazol que revelou tumorigenicidade severa.

Na pesquisa realizada por Fogang e colaboradores (2012), mostra que - citronelol teve um ativo efeito citotóxico sobre diferentes linhagens de células tumorais humanas, as T98G representante de glioblastoma, MDA-MB 231 representante de adenocarcinoma de mama, A375 linhagem de melanoma maligno e células HCT116 que conferem o carcinoma de cólon. Portanto, não conferindo um perfil tumorigênico, como evidenciado *in silico* nesse estudo.

Além disso, para o potencial tumorigênico de itraconazol segue as mesmas considerações para o resultado anterior, uma vez que o núcleo de toxicidade tumorigênico foi o mesmo para

o risco elevado de mutagenicidade (**Figura 1**).

Para o estudo do potencial tóxico - irritante, pôde-se evidenciar que o - citronelol apresentou um severo efeito irritante. E para todos os antifúngicos, foi revelado ausência deste efeito (**Gráfico 3**).

O potencial do - citronelol como um provedor irritante, tem sido analisada em estudos que avaliam a sua capacidade de produzir irritação da pele em animais e humanos. Em modelos animais vem sendo observado irritação de pele, por aplicações tópicas de preparações não diluídas de - citronelol sob condições semi-oclusivas (RIFM, 1989; RIFM, 1985). Para tanto em humanos, o estudo de Basketter e colaboradores (2004), revela nenhum tipo de reação irritante aos voluntários submetidos a teste epicutâneos de 4h exposição por -citronelol.

Estas duas faces levam a seguinte consideração, que uma substância para ser irritante é dependente da frequência, concentração e a quantidade com qual vai ser administrada e a sensibilidade do indivíduo (BRASIL, 2012). E, portanto, esses dados acrescentam a um real perfil de - citronelol quanto a ser cogitada a produção de uma droga por via tópica. No entanto fica ressalvo a necessidade de avaliar seu comportamento irritante para

outras vias de administração.

Para a análise do potencial tóxico ao sistema reprodutor, foi exposto ao - citronelol, severo danos ao sistema reprodutor e para todos os antifúngicos, efeito ausente (**Gráfico 4**).

Na literatura, não foram constatados a prática de ensaios direcionados ao estudo sobre a interferência desse fitoconstituente sobre o sistema reprodutor. No entanto, a análise *in silico*, mostra que a previsão de causar este severo efeito estar ligado ao fragmento que se encontra na **Figura 2**.

Conclusão

O estudo *in silico* de toxicidade ao - citronelol evidenciou alguns níveis tóxicos que supostamente poderão ser desenvolvidos pela molécula quando em contato ao organismo. Dessa forma, faz-se necessário a realização de uma série de ensaios pré-clínicos e especialmente clínicos, para obter um maior esclarecimento sobre a real ação de efeitos toxicológicos e então poder certificar se o fitoconstituente poderá ser empregado para a produção de um futuro medicamento, inclusive para um novo antifúngico.

Agradecimentos

Os autores agradecem a Universidade Federal da Paraíba e ao CNPQ pelo suporte

estrutural e financeiro na realização deste trabalho.

Referências

ABREU, P.A. **Receptor de NMDA: modelagem molecular por homologia e análise SAR de antagonistas de um potencial alvo terapêutico em doenças neurodegenerativas.** Dissertação do curso de Pós-graduação em Neuroimunologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal Fluminense, 2008.

BAKKALLI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 2, p.446–475, 2008.

BASKETTER, D. A.; YORK, M.; MCFADDEN, J.P.; ROBINSON, M. K. Determination of skin irritation potential in the human 4-h patch test. **Contact Dermatitis**, v. 51, n. 1, p.1-4, 2004.

BRAMBILLA, G.; MARTELLI, A. Update on genotoxicity and carcinogenicity testing of 472 marketed pharmaceuticals. **Mutation Research**, v. 681, n. 1, p. 209–229, 2009.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Guia para avaliação de segurança de produtos cosméticos. 2012. Brasília, DF. Disponível em: www.anvisa.gov.br. Acesso em: 17 de abril de 2016.

CHANG, T.H.; HSIEH, F. L.; KO, T.P.; TENG, K. H.; LIANG, P.H.; WANG, A. H. Structure of a Heterotetrameric Geranyl Pyrophosphate Synthase from Mint (*Mentha piperita*) Reveals Intersubunit Regulation. **The Plant Cell Online**, v. 22, n. 2, p. 454–467, 2010.

DRUGBANK. Itraconazole DB01167.

2014. Disponível em: <http://www.drugbank.ca/> >. Acesso em: 15 de março de 2016.

FOGANG, H. P. D.; TAPONDJOU, L. A.; HILAIREM.WOMENI, H. M.; QUASSINTI, L.; BRAMUCCI, M.; VITALI, L. A.; PETRELLI, D.; LUPIDI, G. MAGGI, F.; PAPA, F.; VITTORIC, S. BARBONID, L. Characterization and biological activity of essential oils from fruits of *Zanthoxylum xanthoxyloides* Lam. and *Z. leprieurii* Guill. & Perr. two culinary plants from Cameroon. **Flavour Fragrance Journal**, v. 27, n. 2, p. 171–179, 2012.

JAGDALE, A. D.; KAMBLE, S. P.; NALAWADE, M. L.; ARVINDEKAR, A. U. Citronellol: a potential antioxidant and aldose reductase inhibitor from *Cymbopogon citratus*. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 7, n. 3, p. 203-209, 2015.

MARCHANT, C. A. Computational toxicology: a tool for all industries. **WIRES Computational Molecular Science**, v. 2, n.3, p. 424-434, 2012.

MENGUE, S. S.; MENTZ, L. A.; SCHENKEL, E. P. Uso de plantas medicinais na gravidez. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 11, n.1, p. 21-35, 2001.

OLIVERO-VERBEL, J.; NERIO, L. S.; STASHENKO, E. E. Bioactivity against *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae) of *Cymbopogon citratus* and *Eucalyptus citriodora* essential oils grown in Colombia. **Pest Management Science**, v. 66, n. 6. 664-668, 2010.

OSIRIS. ORGANIC CHEMISTRY PORTAL. 2014. Disponível em: <http://www.organicchemistry.org/prog/peo/>>. Acesso em: 15 de março de 2016.

(83) 3322.3222

contato@conbracis.com.br

www.conbracis.com.br

PADUCH, R.; KANDEFER-SZERSZE, M.; TRYTEK, M.; FIEDUREK, J. Terpenes: substances useful in human healthcare. **Archivum Immunologiae Therapiae Experimentalis**, v. 55, n. 5, p. 315-327, 2007.

PEREIRA, F. O.; MENDES, J. M.; LIMA, I. O.; MOTA, K. S. L.; OLIVEIRA, W. A.; LIMA, E. O. Antifungal activity of geraniol and citronellol, two monoterpenes alcohols, against *Trichophyton rubrum* involves inhibition of ergosterol biosynthesis. **Pharmaceutical Biology**, v. 53, n. 2, p. 1-7, 2014.

RIFM (Research Institute for Fragrance Materials Inc.). Acute dermal irritation/corrosion study of DL-citronellol in rabbits. Unpublished Report from BBA, February. Report Number 12333. RIFM, Woodcliff Lake, NJ, USA, 1989.

RIFM (Research Institute for Fragrance Materials Inc.). Primary skin irritation tests. RIFM Report Number 3099. RIFM, Woodcliff Lake, NJ, USA, 1985.

SINGH, H. P.; MITTAL, S.; KAUR, S.; BATISH, D. R.; KOHLI, R. Characterization and Antioxidant Activity of Essential Oils from Fresh and Decaying Leaves of *Eucalyptus tereticornis*. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 57, n. 15, p. 6962-6966, 2009.

TAMPIERI, M. P.; GALUPPI, R.; MACCHIONI, F.; CARELLE, M. S.; FALCIONI, L.; CIONI, P. L.; MORELLI, I. The inhibition of *Candida albicans* by selected essential oils and their major components. **Mycopathologia**, v. 159, n. 3, p. 339-345, 2005.

TAVARES, E. S.; JULIÃO, L. S.; LOPES, D.; BIZZO, H. R.; LAGE, C. L. S.; LEITÃO, S.G. Análise do óleo essencial de folhas de três quimiotipos de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br. (Verbenaceae) cultivados em condições semelhantes. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 15, n. 1, p. 1-5, 2005.

Gráfico 1. Potencial mutagênico do β -citronelol e antifúngicos: anfotericina B, cetoconazol, clotrimazol, fluconazol, itraconazol, miconazol e nistatina.

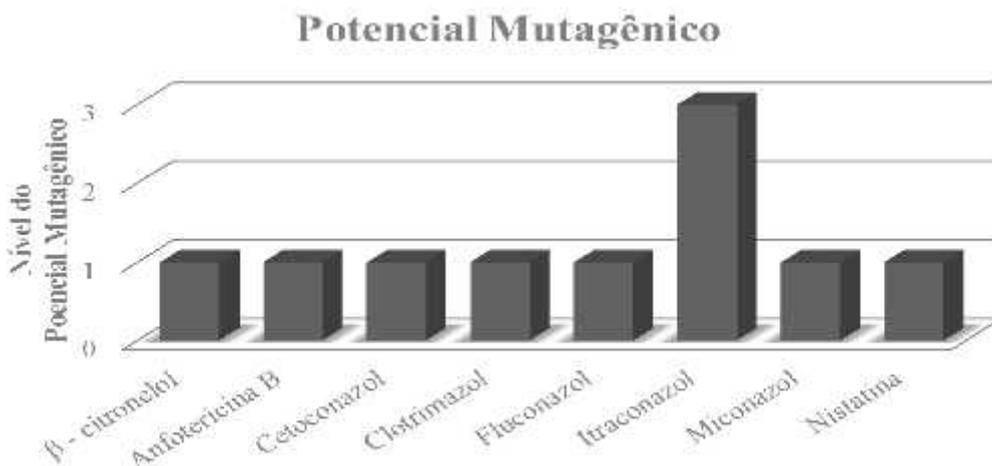


Gráfico 2. Potencial tumorigênico do - citronelol e antifúngicos: anfotericina B, cetoconazol, clotrimazol, fluconazol, itraconazol, miconazol e nistatina.

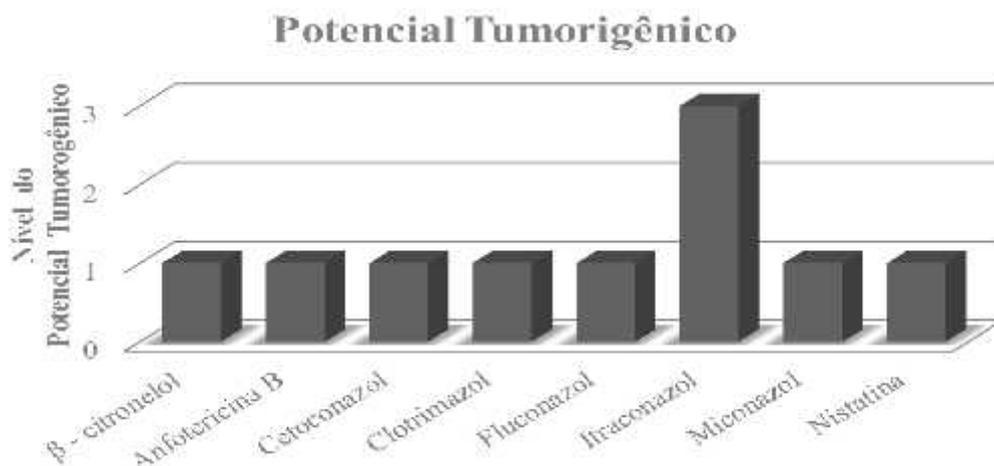


Figura 1. Núcleo reconhecido in silico como provedor de elevado risco mutagênico e tumorigênico do itraconazol.

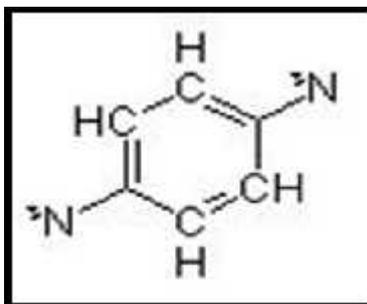


Gráfico 3. Potencial irritante do - citronelol e antifúngicos: anfotericina B, cetoconazol, clotrimazol, fluconazol, itraconazol, miconazol e nistatina.

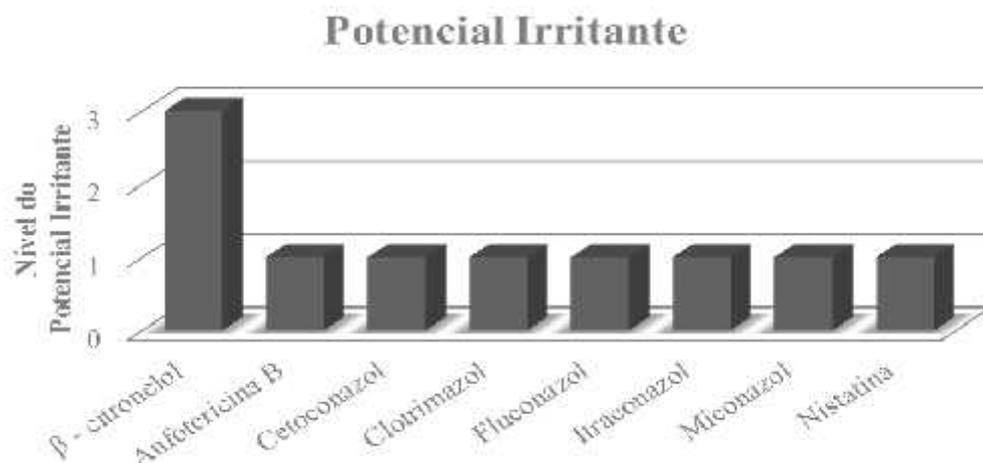


Gráfico 4. Potencial de danos ao Sistema Reprodutor do β - citronelol e antifúngicos: anfotericina B, cetoconazol, clotrimazol, fluconazol, itraconazol, miconazol e nistatina.

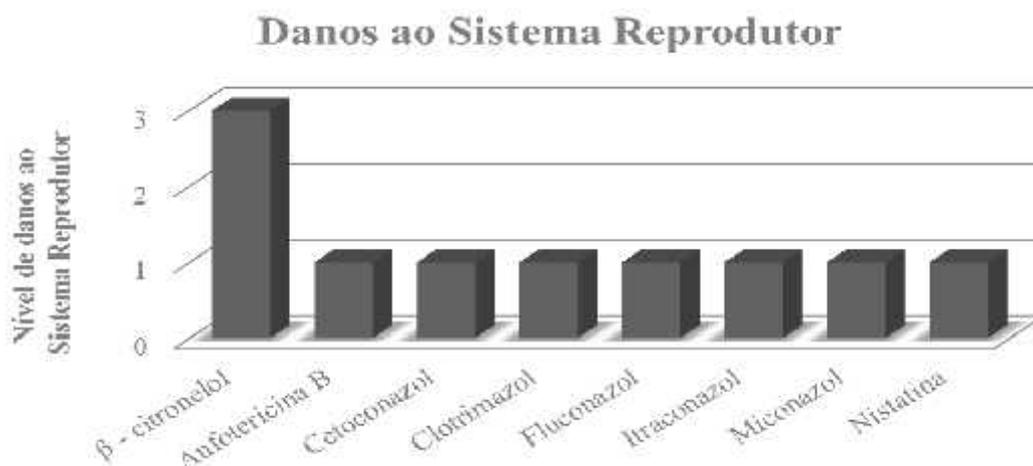


Figura 2. Núcleo in silico de β - citronelol, provedor de severos danos ao sistema reprodutor.

