

AValiação DA TOXICIDADE *IN SILICO* DO MONOTERPENO AUCUBIN

Joyce Natielle Miranda Cavalcante¹; Daniele de Sousa Siqueira¹; Elaine Roberta Leite de Sousa¹; José Lucas Soares Ferreira¹; Abrahão Alves de Oliveira Filho².

¹ Acadêmicas do Curso de Odontologia da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG) – Campus Patos/PB.

E-mail: joyce_natielle@hotmail.com

E-mail: danieleodonto13@gmail.com

E-mail: elaine_roberta5@hotmail.com

E-mail: jlucas_sf@hotmail.com

² Professor Adjunto do Curso de Odontologia da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG) – Campus Patos/PB.

E-mail: abrahão.farm@gmail.com

Resumo: As plantas medicinais são importantes agentes terapêuticos alternativos. O emprego das plantas é supervalorizado no uso tradicional. Dessa forma, torna-se importante o conhecimento sobre a dose e a parte empregada da planta, além de suas propriedades terapêuticas, pois existem aquelas que são altamente tóxicas, mesmo em pequenas doses. Os estudos toxicológicos têm por objetivo pré - dizer os níveis de ingestão das substâncias e os possíveis efeitos colaterais, que podem aparecer no homem após sua administração. A inserção de um novo medicamento no mercado pode ser demorada e dispendiosa até que se prove sua eficácia e segurança. Nesse contexto, destaca - se os iridóides, que constituem o maior grupo de monoterpenoides com esqueleto ciclopentano[c]pirano. Aucubin é um glicosídeo iridóide com uma variedade de efeitos farmacológicos, como antimicrobiano, anti-inflamatório, cicatrização dérmica e capacidade antioxidante *in vitro*. Desta forma, presente trabalho objetiva por meio de ensaios *in silico* avaliar a toxicidade do monoterpeno Aucubin, presente em plantas medicinais testadas na literatura e amplamente utilizadas na medicina popular. Para isso, foi utilizado a ferramenta admetSAR, que é um banco de dados aberto, com sistema de pesquisa de texto e estrutura molecular, continuamente atualizado que coleta, organiza e gerencia dados de propriedades associados à Absorção, Distribuição, Metabolização, Excreção e Toxicidade (ADMET) disponíveis na literatura publicada. Na presente pesquisa observou-se que o monoterpeno aucubin apresenta baixa toxicidade com relação aos

parâmetros usados pela USEPA para TAR e TOA, e não apresenta potencial carcinogênico, viabilizando o seu uso e estudo terapêutico.

Palavras-chave: Aucubin, toxicidade, plantas medicinais.

Abstract: Medicinal plants are important alternative therapeutic agents. The use of plants is overvalued in traditional use. Thus, knowledge about the dose and the employed part of the plant becomes important, as well as its therapeutic properties, since there are those that are highly toxic, even in small doses. Toxicological studies are intended to predict the levels of substance ingestion and possible side effects, which may occur in man after administration. The insertion of a new drug on the market can be time-consuming and expensive until proven effective and safe. In this context, the iridoids, which constitute the largest group of monoterpenoids with a cyclopentane [c] pyran skeleton, stand out. Aucubin is an iridoid glycoside with a variety of pharmacological effects, such as antimicrobial, anti-inflammatory, dermal healing and antioxidant capacity in vitro. In this way, present objective work by means of in silico assays evaluate the toxicity of the monoterpene Aucubin, present in medicinal plants tested in the literature and widely used in folk medicine. The admetSAR tool, which is an open database with a continuously updated molecular structure and text search system, collects, organizes and manages properties associated with Absorption, Distribution, Metabolization, Excretion and Toxicity (ADMET) available in published literature. In the present study it was observed that the monoterpene aucubin presents low toxicity in relation to the parameters used by the USEPA for TAR and TOA, and does not present carcinogenic potential, making possible its use and therapeutic study.

Key words: Aucubin, toxicity, medicinal plants.

INTRODUÇÃO

Desde a existência da humanidade os recursos do reino vegetal são de importância inegável para o desenvolvimento da sociedade. Com o passar do tempo através de tentativas e erros, conhecimentos foram sendo adquiridos e as plantas passaram a ter bastante relevância para nutrição e saúde do homem (DIAS et al., 2017).

As plantas medicinais são importantes por fornecerem matéria-prima para a síntese de drogas, além de serem utilizadas como agentes terapêuticos alternativos. O emprego das plantas é supervalorizado no uso tradicional com base nos seus benefícios medicinais. Dessa forma, torna-se imprescindível o conhecimento sobre a dose e a parte empregada da planta, além de suas propriedades terapêuticas, pois existem aquelas que são altamente tóxicas, mesmo em pequenas doses (ZHAN; ZHOU, 2003).

Visando contribuir com este cenário atual, a química de produtos naturais de vegetais tem por objetivo avançar na identificação e elucidação estrutural de compostos com atividades biológicas, bem como na avaliação de propriedades conferidas a seus metabólitos. (BRAZ-FILHO, 2010)

A popularidade dos produtos de origem vegetal se dissemina na sociedade decorrente a cultura e os relatos sobre respostas positivas frente à doença com baixa ocorrência de efeitos colaterais negativos e, portanto, passam a ser reconhecidos quanto a sua eficácia. (DE CARVALHO et al., 2013). Em contraproposta o custo dos medicamentos industrializados, as dificuldades da população em receber assistência médica e a tendência de uso de produtos de origem natural têm contribuído para o aumento da utilização das plantas como recurso medicinal (ROSSATO et al., 2012)

É de extrema importância a avaliação da ação biológica na triagem de estudo de um vegetal, são também os ensaios toxicológicos, que acrescentam informações para garantir a devida segurança na sua aplicação. Os experimentos toxicológicos têm por objetivo pré-dizer os níveis de ingestão das substâncias e os possíveis efeitos colaterais, que podem aparecer no homem após sua administração. Por este motivo, que tais estudos são indispensáveis nos processos investigativos (MOURA et al., 2012).

A inserção de um novo medicamento no mercado pode ser demorada e dispendiosa até que se prove sua eficácia e segurança. O desenvolvimento de abordagens *in silico* otimiza o tempo e os gastos necessários para trazer um medicamento para o mercado. Tornando os perfis de absorção, distribuição, metabolismo,

excreção e toxicidade (ADMET) previsíveis, resultando em um processo rápido de descoberta de medicamentos (WANG, et al., 2015; DIRAR et al., 2016).

Os iridoides constituem o maior grupo de monoterpenoides com esqueleto ciclopentano[c]pirano. O termo iridoide é derivado dos compostos iridomirmecina, iridolactona e iridodial (Dinda, Debnath, & Harigaya, 2007a; Elnaggar & Beal, 1980). Eles são divididos em: simples ou não glicosilados, glicosilados, principalmente nas posições 1 e 5, secoiridoides, que são originados a partir da clivagem do anel ciclopentano entre os carbonos 7 e 8, e bisiridoides, os quais são resultantes da dimerização de iridoides e secoiridoides (Bianco, 1994; Villasenor, 2007).

Aucubin é um glicosídeo iridóide com uma variedade de efeitos farmacológicos, como antimicrobiano (ISHIGURO et al., 1982), anti-inflamatório (RECIO et al., 1994) cicatrização dérmica (SHIM et al., 2007) e capacidade antioxidante *in vitro* (LI et al., 2004). Além disso, o aucubin mostrou inibição da biossíntese de RNA e proteína (CHENG et al., 1983). Além do mais, ele inibe a secreção induzida por TNF- α e a síntese de mRNA. Finalmente, o aucubin foi considerado como um promissor agente quimiopreventivo (Hung et al., 2008).

O presente trabalho objetiva por meio de ensaios *in silico* avaliar a toxicidade do monoterpeno Aucubin, presente em plantas medicinais testadas na literatura e amplamente utilizadas na medicina popular.

METODOLOGIA

Ensaio *in silico*

1.1 Locais da Pesquisa

Os ensaios ocorreram no Laboratório de Fitoterapia, Bioquímica e Microbiologia da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), coordenado pelo Prof^o. Dr^o. Abrahão Alves de Oliveira Filho.

1.2 Parâmetros toxicológicos

Os parâmetros toxicológicos teóricos foram calculados com o objetivo de analisar se a substância possui as características essenciais para que

possa ser considerado como possível fármaco e, dessa forma, evitar gastos desnecessários durante o processo de pesquisa & Desenvolvimento (AFONSO, 2008). Esses parâmetros são: Potencial Mutagênico AMES (AMES), Toxicidade Oral Aguda (TOA), Potencial Carcinógeno (PC) e Carcinogenicidade (Car). Os parâmetros relacionados à toxicidade foram avaliados pela ferramenta admetSAR (SOUZA, 2015).

1.3 AdmetSAR

O admetSAR é um banco de dados aberto, com sistema de pesquisa de texto e estrutura molecular, continuamente atualizado que coleta, organiza e gerencia dados de propriedades associados à Absorção, Distribuição, Metabolização, Excreção e Toxicidade (ADMET) disponíveis na literatura publicada. Em admetSAR, mais de 210.000 dados anotados sobre ADMET para mais de 96.000 compostos exclusivos com 45 tipos de propriedades associadas à ADMET. O banco de dados fornece uma interface simples para consultar um perfil químico específico, usando o número de registro no Chemical Abstract Service - CAS, o nome comum ou a similaridade de estrutura (CHENG et al., 2012).

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Para os parâmetros de toxicidade foi possível observar que o composto avaliado não apresentou potencial mutagênico pelo teste AMES, foi classificado como não carcinogênico pelo PC, cuja Car não foi relevante. A TOA foi classificada em IV, que inclui compostos com DL_{50} de valores superiores a 5000mg/kg segundo a USEPA. Os resultados estão descritos na tabela a seguir.

Tabela 1. Resultados para os testes de toxicidade realizados na ferramenta AdmetSAR e suas respectivas probabilidades.

TESTE	RESULTADO	PROBABILIDADE
TOA	Classificação IV segundo a Agência de Proteção Ambiental Americana (USEPA)	0,4268
PC	Não carcinógeno	0,9676
Car	-	0,6579
AMES	Não mutagênico	0,7061

- - (não relevante)

CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos após os testes, foi possível concluir que o Aucubin apresenta baixa toxicidade com relação aos parâmetros usados pela USEPA para TAR e TOA, e não apresenta potencial carcinogênico, viabilizando o seu uso terapêutico. No entanto fazem-se necessários estudos mais aprofundados para elucidação de mecanismos e padrões de eficiência e eficácia.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, depois aos companheiros do Laboratório de fitoterapia, bioquímica e microbiologia da UFCG (LAFBIM – UFCG) pelo incentivo e grande apoio com os estudos para a realização deste trabalho e ao Prof. Abrahão, pela orientação e seu grande desprendimento em me ajudar.

REFERÊNCIAS

AFONSO, IIDIO FERREIRA. **Modelagem Molecular e Avaliação da Relação Estrutura-Atividade Acoplados a Estudos Farmacocinéticos e**

Toxicológicos in silico de Derivados Heterocíclicos com Atividade Antimicrobiana.

[Dissertação de Mestrado]. Rio de Janeiro: Universidade Federal do Rio de Janeiro; 2008. p.136.

BIANCO, A. (1994). Recent developments in iridoids chemistry. **Pure and Applied Chemistry**, 66(10-11), 2335-2338.

BRAZ FILHO, R. Contribuição da fitoquímica para o desenvolvimento de um país emergente. **Química Nova**, v.33, n. 1, p. 229-239, 2010.

CHANG, I.M.; RYU, J.C.; PARK, Y.C.; YUN, H.S.; YANG, K.H. Protective activities of aucubin against carbon tetrachloride-induced liver damage in mice. **Drug Chem. Toxicol.** 1983, v. 6, p. 443-453.

CHENG, F. et al. **admetSAR: a comprehensive source and free tool for assessment of chemical ADMET properties.** 2012.

DE CARVALHO JS, MARTINS JD, MENDONÇA MD, DE LIMA LD. **Uso popular das plantas medicinais na comunidade da Várzea, Garanhuns-PE.** 2013; 12(2): p. 58-65.

DIAS GT, LIMA CM, LIRA AB, RAMALHO JA, OLIVEIRA KM, DINIZ MF. Toxicidade do extrato hidroalcoólico das folhas de *Cissus sicyoides*. **Acta Brasiliensis.** 2017 Feb 15 ;1(1):8-12.

DINDA, B., DEBNATH, S., & HARIGAYA, Y. (2007b). Naturally occurring secoiridoids and bioactivity of naturally occurring iridoids and secoiridoids. A review, part 2. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, 55(5), p. 689-728.

ERNST, E. J.; ROLING, E. E.; PETZOLD, C. R.; KEELE, D. J.; KLEPSE, M. E. In Vitro Activity of Micafungin (FK-463) against *Candida* spp.: Microdilution, Time-Kill, and Postantifungal-Effect Studies. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 46, n. 12, p. 3846-3853, 2002.

HUNG, J.Y.; YANG, C.J.; TSAI, Y.M.; HUANG, H.W.; HUANG, M.S. Antiproliferative activity of aucubin is through cell cycle arrest and apoptosis in human non-small cell lung cancer A549 cells. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 2008, 35, 995–1001.

ISHIGURO, K.; YAMAKI, M.; TAKAGI, S. **Studies on the iridoid related compound. I. On the antimicrobial activity of aucubigenin and certain iridoid aglycones.** *Yakugaku Zasshi* 1982, 102, p. 755–759.

LI, F.R.; YANG, J.X.; SHEN, X.T.; LI, S.J. **Antioxidative activities of aucubin *in vitro*.** *J. Shaanxi Norm. Univ.* 2004, 32, 98–101.

MOURA, NS, VASCONCELOS, ACM, BERNABÉ, BM, TEIXEIRA, L JQ, SARAIVA, SH. Ensaio toxicológicos: Um estudo sobre a utilização de testes *in vivo* e *in vitro*. **Enciclopédia biosfera. Centro Científico Conhecer.** 2012; 8(15): p.1945.

PISOSCHI AM, POP A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. **European journal of medicinal chemistry.** 2015 Jun 5;97:55-74.

PRADO A, PETROIANU GA, LORKE DE, CHAMBERS JW. A trivalent approach for determining *in vitro* toxicology: Examination of oxime K027. **Journal of Applied Toxicology.** 2015 Feb 1;35(2):219-27.

RECIO, M.C.; GINER, R.M.; MÁÑEZ, S.; RÍOS, J.L. Structural considerations on the iridoids as anti-inflammatory agents. *Plant Med.* 1994, 60, p. 232–234.

ROSSATO BADKE M, DENARDIN BUDÓ MD, TITONELLIE ALVIN NA, DOLEJAL ZANETTI G, HEISLER EV. Saberes e práticas populares de cuidado em saúde com o uso de plantas medicinais. **Texto & contexto enfermagem.** 2012; 21(2).

SOUZA, JOÃO PEDRO DE ALBUQUERQUE. **Estudo de ancoragem molecular de derivados de ácido cinâmico frente à enzimas do ciclo replicativo do HIV-1** (Bachelor's thesis, Universidade Tecnológica Federal do Paraná). [Trabalho de Conclusão de Curso].

Campo Mourão: Universidade Tecnológica Federal do Paraná; 2015. p.91.

THOMPSON JB, PASCALICCHIO ÁA. O impacto da medicina tradicional: Brasil como potência verde mundial. **Revista Brasileira de Medicina de Família e Comunidade**. 2012;7(1):62.

TORTORA, GERARD J. Microbiologia [recurso eletrônico] / Gerard J. Tortora, Berdell R. Funke, Christine L. Case ; tradução: Aristóbolo Mendes da Silva ... [et al.] ; **revisão técnica: Flávio Guimarães da Fonseca**. – 10. ed. – Dados eletrônicos. – Porto Alegre : Artmed, 2012
SHIM, K.M.; CHOI, S.H.; JEONG, M.J.; KANG, S.S. **Effects of aucubin on the healing of oral wounds**. *In Vivo* 2007, v. 21, p.1037–1041.

ZABAWA TP, PUCCI MJ, PARR JR TR, LISTER T. Treatment of Gram-negative bacterial infections by potentiation of antibiotics. **Current opinion in microbiology**. 2016 Oct 1;33:7-12.

ZANGER UM, SCHWAB M. Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism: regulation of gene expression, enzyme activities, and impact of genetic variation. **Pharmacology & therapeutics**. 2013 Apr 1;138(1):103-41.

ZHAN, J.; ZHOU, P. A. A simplified method to evaluate the acute toxicity of ricin and ricius agglutinin. **Toxicology**, v. 186, n. 1-2, p. 119-123, 2003.

WANG Y, XING J, XU Y, ZHOU N, PENG J, XIONG Z, LIU X, LUO X, LUO C, CHEN K, ZHENG M. In silico ADME/T modelling for rational drug design. **Quarterly reviews of biophysics**. 2015 Nov; 48(4): p.488-515.