

AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE *IN SILICO* DO MONOTERPENO A-FELANDRENO

José Lucas Soares Ferreira¹; Daniele de Souza Siqueira¹; Joyce Natielle Miranda Cavalcante¹; Elaine Roberta Leite de Souza¹; Abrahão Alves de Oliveira Filho²

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

E-mail: JLucas_sf@hotmail.com

E-mail: danielleodonto13@gmail.com

E-mail: joyce_natielle@hotmail.com

E-mail: elaine_roberta5@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: Em virtude do ritmo do desenvolvimento da produção química mundial, e, o alto custo das avaliações tradicionais de toxicidade, a quantidade de animais sacrificados, e maior tempo demandado para realização dos testes, foi proposto um novo modelo de abordagem em testes de toxicidade. A Toxicologia *in silico*, uma das fronteiras da Toxicologia, traz um novo paradigma de avaliação da toxicidade de substâncias, no qual são feitas previsões da toxicidade através ferramentas computacionais. Produtos naturais de origem vegetal têm sido bastante utilizados para fins medicinais, como fonte de compostos bioativos. O alfa-felandreno é um monoterpene cíclico presente nos óleos essenciais do fruto maduro de *Schinus terebinthifolius* e nas raízes de *Moringa oleífera*; ambos os óleos essenciais apresentam propriedades terapêuticas relatadas na literatura, dentre elas, atividade antiinflamatória e analgésica. O presente trabalho objetiva avaliar a toxicidade *in silico* do monoterpene alfa-felandreno. Para avaliar a toxicidade foram realizados estudos *in silico* utilizando a ferramenta AdmetSAR, onde foram observados os parâmetros de Potencial Mutagênico AMES (AMES), Toxicidade Oral Aguda (TOA), Potencial Carcinógeno (PC) e Carcinogenicidade (Car). O composto avaliado não apresentou potencial mutagênico pelo teste AMES, foi classificado como carcinogênico pelo PC, cuja Car indica grau de atenção. A TOA foi classificada em IV. Com base nos resultados obtidos após os testes, foi possível concluir que o α -felandreno apresenta provável potencial carcinogênico. Mais estudos e testes laboratoriais de toxicidade devem ser realizados para o α -felandreno, cujo estudo e efeitos citotóxicos são pouco relatados na literatura científica.

Palavras-chave: α -felandreno, plantas medicinais, toxicidade.

Abstract: In Virtue of the Rhythm of the Development of the World's Chemical Production, and, the high COST of the Traditional Toxicity Assessments, the Quantity of animals sacrificed, and Greater demanded rhythm for Testicular Realization, was proposed A New Approach Model in testicles of Toxicity. Toxicology in silico, one of the borders of Toxicology, brings a new paradigm of evaluation of the toxicity of substances that are not affected by the toxicity. Natural products of vegetable origin were widely used for medicinal purposes as a source of bioactive compounds. The alpha-phellandrene is a cyclic monoterpene present in the essential oils of the mature fruit of *Schinus terebinthifolius* and in the roots of *Moringa oleifera*; the minimum of the related properties will be related to the anti-inflammatory and analgesic activity. The present work aims to evaluate the silico toxicity of monoterpene alpha-phellandrene. To assess for toxicity were performed in silico studies using an AdmetSAR Tool, where AMES Mutagenic Potential Parameters (AMES), Acute Oral Toxicity (TOA), Carcinogenic Potential (PC) and Carcinogenicity (Car) were observed. The device is not a mutagenic potential by the AMES test, was classified as carcinogenic by the PC, as Car attention indicator. The TOA was classified in IV. Based on the results obtained in the testicles, it was possible to conclude that α -felandreno presents potential carcinogenic potential. Further studies and toxicity laboratory tests should be performed for the action process, with study and analysis of cytotoxic effects related to the scientific literature.

Key words: α - phellandrene; medicinal plants; toxicity.

INTRODUÇÃO

Sabe-se que toda substância química apresenta potencial toxicidade, e tal conhecimento torna-se essencial para uma utilização segura destes compostos. A avaliação da toxicidade auxilia na seleção de candidatos segundo menor potencial de toxicidade, e fornece as bases para o estabelecimento de critérios e formas de uso ou manejo; para o estabelecimento de ações regulatórias efetivas (ex: regulamentações sobre transporte, importação ou exportação, etc.); para o atendimento a regulações já previamente estabelecidas e para o processo de avaliação de risco toxicológico e ecotoxicológico (HELMA et al., 2004; USEPA, 2010; DIAS et al., 2017).

Em virtude do ritmo do desenvolvimento da produção química mundial, e, o alto custo das avaliações tradicionais de toxicidade, a quantidade de animais sacrificados, e maior tempo demandado para realização dos testes; foi proposto um novo modelo de abordagem em testes de toxicidade (HELMA et al., 2004).

A Toxicologia *in silico*, uma das fronteiras da Toxicologia, traz um novo paradigma de avaliação da toxicidade de substâncias, no qual são feitas previsões da toxicidade através ferramentas computacionais, baseadas em modelos *QSAR* (*Quantitative Structure-activity Relationship*), modelos *REA* (*Relação Estrutura-atividade*), modelos estatísticos, entre outros (HELMA et al., 2004).

A Toxicologia Computacional pode ser definida como a área da Toxicologia, na qual aplica-se modelos computacionais e matemáticos para a predição de efeitos adversos, e, para o melhor entendimento do(s) mecanismo(s) através do(s) qual(is) uma determinada substância provoca o dano (DUFFUS, 2007).

Nesta grande área do conhecimento, destaca-se a produção de ferramentas computacionais de avaliação preditiva da toxicidade, a partir da integração de avanços em informática e bioinformática, estatística, química computacional, biologia e toxicologia (DUFFUS, 2007; USEPA, 2010).

A *Modelagem molecular* é uma abordagem muito usada em pesquisa farmacêutica, podendo ser aplicada à Toxicologia. É necessário

dispor da estrutura do alvo molecular, geralmente obtida por cristalografia de raio X, e que posteriormente, é construída computacionalmente e armazenada em bases de dados como *PDB (Protein Data Base)* (Rabinowitz, 2009).

A partir disso, podem ser feitos testes computacionais medindo a energia de ligação entre potenciais ligantes e os alvos moleculares, sendo que atualmente existem elucidadas muitas famílias de alvos de importância toxicológica, como receptores estrogênicos e outros receptores nucleares, quinases, hidrolases, entre outros (Rabinowitz, 2009).

Produtos naturais de origem vegetal têm sido bastante utilizados para fins medicinais, como fonte de compostos bioativos. Originados do metabolismo secundário das plantas, os óleos essenciais são os principais compostos terapêuticos das plantas medicinais. Dentre as substâncias químicas presentes nos óleos essenciais, estão os terpenos, que são derivados do isopreno, substância presente no metabolismo secundário das plantas. (ARAÚJO et al., 2004; ALBUQUERQUE et al., 2007; BOTELHO et al., 2007; ANDRADE et al., 2012).

A necessidade por parte do ramo farmacêutico na descoberta de novos fármacos eficazes para diversas doenças aumenta dia após dia, o reino vegetal nesse ponto torna-se “fonte” por conter plantas com atividades farmacológicas variadas, potentes e eficazes ressaltando dessa forma a importância do estudo das plantas medicinais (OMBITO, et al., 2014).

Assim como é de extrema importância à 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 (MOURA et al., 2012).

O alfa-felandreno é um monoterpene cíclico presente nos óleos essenciais do fruto maduro de *Schinus terebinthifolius* e nas raízes de *Moringa oleífera*; ambos os óleos essenciais apresentam propriedades terapêuticas relatadas na literatura, dentre elas, atividade antiinflamatória e analgésica (CLEMENTE, 2006; OGUNBINU, 2009). O presente trabalho objetiva avaliar a toxicidade *in silico* do monoterpene alfa-felandreno, 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: Toxicidade Oral Aguda (TOA), Potencial Mutagênico AMES (AMES), 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 carcinogênico pelo PC, cuja Car indica grau de atenção. A TOA foi classificada em IV, que inclui compostos com DL₅₀ 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)	0,5836
PC	carcinógeno	0,5244
Car	grau de atenção	0,5247
AMES	Não mutagênico	0,9549

Clemente (2006), ao estudar a composição química do óleo essencial do fruto maduro de *Schinus terebinthifolius*, observou a presença, em altas concentrações, de α -felandreno. todavia não encontrou nenhum grau de toxicidade relacionada ao óleo essencial de *Schinus terebinthifolius*. São escassos os dados literários relacionados a toxicidade do α -felandreno, ou de substâncias que contenham o monoterpene na composição.

CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos após os testes, foi possível concluir que o α -felandreno apresenta baixa toxicidade com relação aos parâmetros usados pela USEPA para TOA, não

apresenta potencial mutagênico, entretanto apresenta provável potencial carcinogênico. Mais estudos e testes laboratoriais de toxicidade devem ser realizados para o α -felandreno, cujo estudo e efeitos citotóxicos são pouco relatados na literatura científica.

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. Abraão, pela orientação e auxílio na minha formação acadêmica.

REFERÊNCIAS

- HELMA, C. In silico predictive toxicology: the state-of-the-art and strategies to predict human health effects. **Current opinion in drug discovery & development**, v. 8, n. 1, p. 27-31, 2005.
- DUFFUS, J. H.; NORDBERG, Monica; TEMPLETON, Douglas M. Glossary of terms used in toxicology, (IUPAC Recommendations 2007). **Pure and Applied Chemistry**, v. 79, n. 7, p. 1153-1344, 2007.
- DIAS, G. T. et al. Toxicidade do extrato hidroalcoólico das folhas de *Cissus sicyoides*. **Acta Brasiliensis**, v. 1, n. 1, p. 8-12, 2017.
- RABINOWITZ, James R. et al. Molecular modeling for screening environmental chemicals for estrogenicity: use of the toxicant-target approach. **Chemical research in toxicology**, v. 22, n. 9, p. 1594-1602, 2009.
- USEPA – United States Environmental Protection Agency. **Computational Toxicology Research Program**. Disponível em: <<http://www.epa.gov/ncct/>> Acesso em: 10 mai. 2018;
- ALBUQUERQUE, U. P.; MEDEIROS, P. M.; ALMEIDA, A. L. S.; MONTEIRO, J. M.; LINS NETO, A. M. F.; MELO J. G.; DOS SANTOS, J. P. Medicinal plants of the caatinga (semi-arid) vegetation of NE Brazil: a quantitative

approach. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 114, p. 325–354, 2007.

ANDRADE, M.A.; CARDOSO, M.G.; BATISTA, L.R.; MALLET, A.C.T.; MACHADO, S.M.F. Óleos essenciais de *Cymbopogon nardus*, *Cinnamomum zeylanicum* e *Zingiber officinale*: composição, atividades antioxidante e antibacteriana. **Revista de Ciências Agronômica**, v.43, n.2, p.399-408, 2012.

ARAÚJO, J.C.L.V.; LIMA, E.O.; CEBALLOS, B.S.O.; FREIRA, K.R.L.; SOUZA, E.L. Ação antimicrobiana de óleos essenciais sobre microorganismos potencialmente causadores de infecções oportunistas. **Revista Patologia Tropical**, v. 33, p. 55-64, 2004.

BOTELHO, M. A.; NOGUEIRA, N. A.; BASTOS G.M.; FONSECA S. G.; LEMOS T. L.; MATOS, E.J. Antimicrobial activity of the essential oil from *Lippia siloides*, carvacrol and thymol against oral pathogens. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.40, n.3, p.349-56,2007.

OMBITO, J.O.; SALANO, E. N.; YEGON, P. K.; NGETICH, W. K.; MWANGI, E. M. A review on the chemistry of some species of genus *Lippia* (Verbenaceae family). **J Sci Innov Res**. 2014;3(4):460-6.

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.

OGUNBINU, A.O.; FLAMINI, G.; CIONI, P.L.; ADEBAYO, M.A.; OGUNWANDE, I.A.. **Nat ProdCommun**. 2009, 4(4), 573-578.

CLEMENTE, A. D.. **Chemical composition and biological activity of the pink-pepper (*Schinus terebinthifolius Raddi*) essential oil**. 2006. 63 f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica analítica; Agroquímica inorgânica e Físico-química; Agroquímica orgânica) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2006.

AFONSO, I. F. **Modelagem Molecular e Avaliação da Relação Estrutura-Atividade Acoplados a Estudos Farmacocinéticos e Toxicológicos in silico de Derivados Heterocíclicos com Atividade Antimicrobiana**. 2008. Tese de Doutorado. Dissertation, Universidade Federal do Rio de Janeiro Google Scholar.

SOUZA, J. P. A.. **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. 91p.

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