



ESTUDO *IN SILICO* DO POTENCIAL DE APLICAÇÃO DOS ALCALOIDES ISOQUINOLÍNICOS DO GRUPO *OCOTEA* (LAURACEAE) NO DESENVOLVIMENTO DE FÁRMACOS

E. MOCHIUTTI¹, A. L. S. CARVALHO¹, R. L. C. SEHWARTZ¹, D. S. B. BRASIL¹ e M. C. MARTELLI¹

¹ Universidade Federal do Pará, Faculdade de Engenharia Química
E-mail para contato: mochiuttieric@gmail.com

RESUMO – A constante procura por produtos que auxiliam no combate à patologias e/ou possuem propriedades terapêuticas movimenta a indústria farmacêutica. No presente trabalho, analisou-se o potencial de aplicação dos alcaloides Dicentrina, Isoboldina, Isocoridina e Ococriptina, pertencentes ao grupo *Ocotea* (Lauraceae), no desenvolvimento de fármacos através de um estudo *in silico*. Durante a pesquisa, utilizou-se de ferramentas *online* como os servidores PreADMET e PASS, além de *softwares* como *MarvinSketch*, *Gaussian* e *Spartan* para procedimentos como cálculos de otimização (utilizando-se o método DFT e o conjunto de bases B3LYP/6-31G*) e frequências. Para a análise dos resultados, comparou-se os mesmos com dados estatísticos presentes na literatura, além de ter sido aplicada também a regra dos cinco de Lipinski. Os resultados obtidos demonstraram que a Isoboldina é o composto mais estável e eletronegativo, enquanto a Dicentrina é o alcaloide mais eletropositivo. Além disso, as propriedades físico-químicas verificadas para cada molécula revelaram que todas podem ser candidatas a fármacos, com base na regra de Lipinski. O teste de AMES mostrou que a Ococriptina possui caráter não mutagênico, enquanto a Dicentrina apresentou resultados negativos durante os testes de carcinogenicidade em ratos. Ademais, todos os alcaloides devem apresentar uma excelente absorção intestinal, uma média permeabilidade nas células Caco-2 e elevadas chances de suas atividades biológicas serem ativas.

1. INTRODUÇÃO

Pode-se definir como alcaloides os compostos nitrogenados e farmacologicamente ativos, encontrados geralmente em angiospermas (Simões *et al.*, 2004). Em relação a sua estrutura química, os alcaloides podem ser classificados como alcaloides verdadeiros, protoalcaloides e pseudo-alcaloides (Bruneton, 2001).

A família Lauraceae é uma das espécies botânicas mais interessantes para o reflorestamento de áreas degradadas, sua madeira é amplamente utilizada, assim como seus frutos (Lorenzi, 1992). Além disso, a presença de alcaloides isoquinolínicos no gênero *Ocotea* é algo a se destacar, onde compostos como a Dicentrina, Isoboldina, Isocoridina e Ococriptina foram isolados em trabalhos publicados na última década (Zanin e Lordello, 2007).

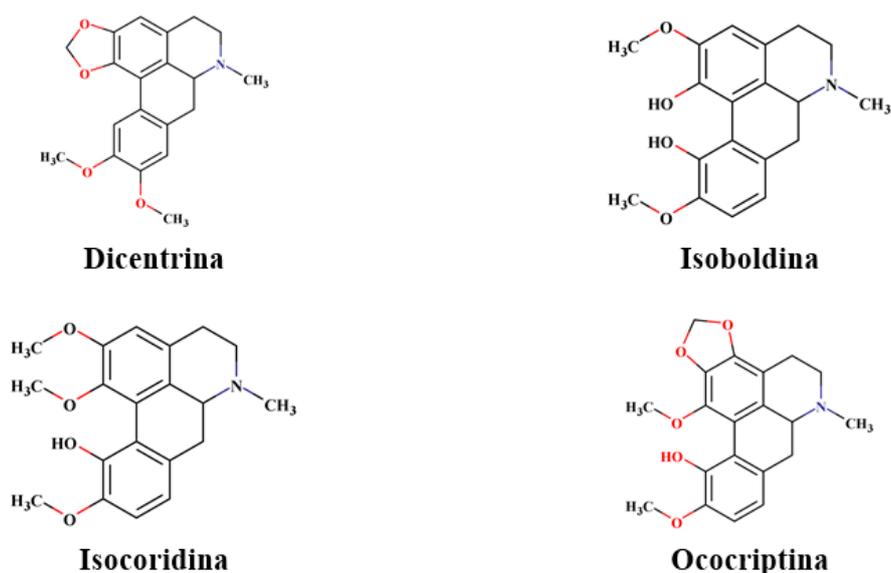
Segundo a Organização Mundial de Saúde, cerca de 65% a 80% da população mundial, em condições de pobreza e/ou sem acesso a medicina moderna, dependem essencialmente de plantas nos cuidados primários de saúde (Parker *et al.*, 2007). No Brasil, o estudo relacionado a área de plantas medicinais se expandiu e se consolidou por volta do século XX, estando relacionado à implementação de instituições de pesquisa e à organização de disciplinas como botânica, química e farmacologia (Fernandes, 2014).

Com o avanço tecnológico, o emprego de técnicas computacionais no descobrimento e desenvolvimento de fármacos vem sendo bastante difundido atualmente. Segundo Kapetanovic (2008), as vantagens de se realizar estudos *in silico* incluem a economia de tempo e a otimização de resultados. Nesse contexto, o presente trabalho busca avaliar o potencial dos alcaloides Dicentrina, Isoboldina, Isocoridina e Ococriptina como fármacos.

2. METODOLOGIA

O estudo *in silico* dos alcaloides Dicentrina (ID: 1), Isoboldina (ID: 2), Isocoridina (ID: 3) e Ococriptina (ID: 4) foi desempenhado a partir dos modelos 2D de cada um, os quais foram desenhados no programa *MarvinSketch*, como mostra na Figura 1; cálculos de minimização de energia foram executados através do programa *Gaussian*; parâmetros como o método DFT e o conjunto de bases B3LYP/6-31G* foram utilizados. Além disso, cálculos de frequência foram executados com o intuito de confirmar os pontos estacionários, garantindo a inexistência de frequências imaginárias e mostrando que as estruturas correspondiam à uma conformação de energia mínima local (Souza *et al.*, 2018).

Figura 1 – Estrutura bidimensional dos compostos analisados



Através do software *Spartan*, determinou-se as propriedades físico-químicas de cada composto, como energia do orbital molecular ocupado mais alto (HOMO), energia do orbital molecular desocupado mais baixo (LUMO), diferença entre HOMO e LUMO (GAP), massa

(MW), coeficiente de partição (Log P), doador de ligação de hidrogênio (HBD), aceitador de ligação de hidrogênio (HBA) e área de superfície polar (PSA). A partir de tais resultados, a regra dos cinco de Lipinski foi aplicada para verificar a viabilidade do uso dos compostos como fármacos (Lipinski *et al.*, 1997).

As propriedades farmacocinéticas das moléculas foram obtidas através de servidores *online*. Informações referentes a absorção intestinal humana (HIA), permeabilidade celular *in vitro* (PCaco-2), mutagenicidade (teste de AMES) e carcinogenicidade (para ratos e camundongos) foram obtidas através do servidor PreADMET (Lee *et al.*, 2003). Resultados referentes a possíveis atividades biológicas de cada composto foram obtidas através do servidor PASS (Poroikov *et al.*, 2003)

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

A Tabela 1 apresenta as propriedades físico-químicas das moléculas, determinadas com o auxílio do programa *Spartan*.

Tabela 1 – Características físico-químicas dos compostos estudados.

ID	E_{HOMO} (eV)	E_{LUMO} (eV)	GAP (eV)	MW (da)	HBD	HBA	Log P	PSA (Å^2)
1	-5,24	-0,59	4,65	339,391	0	5	-2,82	30,462
2	-5,02	-0,51	4,51	327,38	2	5	-3,06	45,057
3	-5,11	-0,58	4,53	341,407	1	5	-2,95	34,472
4	-5,13	-0,53	4,6	355,39	1	6	-3,9	45,001

De acordo com Fleming (1976), quanto menor o valor para E_{HOMO} , mais eletronegativa será a molécula. Logo, a partir da análise dos valores descritos na Tabela 1, verifica-se que a Dicentrina é a molécula mais eletropositiva, pois apresenta o maior valor para a propriedade E_{HOMO} (-5,24 eV), enquanto a Isoboldina é a mais eletronegativa por apresentar o menor valor para a mesma propriedade (-5,02 eV).

De acordo com Santos *et al.* (2014), o valor do GAP é um importante indicador da estabilidade de uma molécula. Neste contexto, haja vista que a Isoboldina apresenta o menor valor de GAP em relação as demais moléculas (4,51 eV), pode-se inferir que a mesma é o composto menos estável do grupo estudado, diferentemente da Dicentrina, a qual possui o maior valor de GAP (4,65 eV) e pode ser considerada a mais estável entre as demais.

A regra dos cinco de Lipinski estabelece que uma má absorção de um candidato a fármaco é mais provável quando uma molécula apresenta mais de cinco doadores de ligação de hidrogênio, massa maior que 500 da, um valor de Log P maior que 5 e mais de dez aceitadores de ligação de hidrogênio (Lipinski *et al.*, 1997). Portanto, pode-se verificar que todos os compostos podem ser bons candidatos a fármacos. Quanto aos valores verificados para a área de superfície polar (PSA), Pajouhesh e Lenz (2005) afirmam que compostos com PSA abaixo de 60 Å^2 são completamente absorvidos pelas células Caco-2 intestinais. Em relação as propriedades obtidas através do servidor PreADMET, as mesmas estão descritas nas Tabelas 2 e 3.

Tabela 2 – Propriedades ADME dos compostos estudados

ID	Pcaco-2 (nm/s)	HIA (%)
1	56,519	97,758
2	18,054	93,264
3	45,373	95,657
4	42,789	95,830

Tabela 3 – Informações sobre mutagenicidade e carcinogenicidade dos compostos

ID	Mutagenicidade	Carcinogenicidade (Ratos)	Carcinogenicidade (Camundongos)
1	Mutagênico	Não	Sim
2	Mutagênico	Sim	Sim
3	Mutagênico	Sim	Sim
4	Não mutagênico	Sim	Sim

Segundo Pérez *et al.* (2004), candidatos a fármacos que apresentam valores para a propriedade HIA maior ou igual a 80%, apresentarão uma excelente absorção intestinal. Logo, pode-se constatar a partir da Tabela 2, que todas as moléculas se enquadram em tal classificação. Em relação a permeabilidade dos compostos nas células Caco-2, a classificação feita por Yazdanian *et al.* (1998) permite inferir que todos os compostos apresentam uma média permeabilidade, haja vista que todos os resultados para PCaco-2 estão no intervalo entre 4 nm/s e 70 nm/s. Quanto ao teste de carcinogenicidade, Cunha *et al.* (2015) e Moreira *et al.* (2002) explicam que o teste de AMES é um método aplicado com o intuito de analisar a ação mutagênica de um composto em função de sua concentração, utilizando-se ratos e/ou camundongos. Nesse sentido, nota-se que a Ococriptina apresentou caráter não mutagênico e a Dicentrina apresentou resultados negativos durante os testes de carcinogenicidade em ratos. Ademais, os resultados obtidos através do servidor PASS estão dispostos na Tabela 5, onde pode-se observar as possíveis atividades biológicas dos compostos estudados.

Tabela 1 – Atividades biológicas possíveis dos compostos analisados

Composto	Atividade	PA	PI
Dicentrina	Antitussive	0,881	0,002
	Sigma receptor agonist	0,88	0,002
	Respiratory analeptic	0,84	0,006
	MAP kinase stimulant	0,808	0,003
	5 Hydroxytryptamine release stimulant	0,762	0,018
	Antiparkinsonian. rigidity relieving	0,758	0,003
Isoboldina	Membrane permeability inhibitor	0,773	0,015
	Neurotransmitter antagonist	0,759	0,003
Isocoridina	5 Hydroxytryptamine release stimulant	0,951	0,003
	UGT1A9 substrate	0,814	0,004
	MAP kinase stimulant	0,796	0,003
	Histamine release stimulant	0,794	0,003
	Oxygen scavenger	0,757	0,004
	Antineurotic	0,753	0,026
Ococriptina	Antitussive	0,903	0,002
	Neurotransmitter uptake inhibitor	0,881	0,002
	5 Hydroxytryptamine release stimulant	0,792	0,015



Segundo Lagunin *et al.* (2000), ao apresentar $PA > 0,7$, um composto possui uma elevada probabilidade ser ativo, embora suas chances de ser semelhantes a um fármaco já conhecido seja diretamente proporcional. Portanto, pode-se constatar que todos apresentam atividades biológicas com grandes chances de serem ativas, onde se destaca o efeito da Isocoridina como estimulante na liberação do neurotransmissor 5-Hydroxytryptamine (serotonina).

4. CONCLUSÃO

Logo, a partir deste trabalho pôde-se concluir a respeito do potencial de aplicação dos compostos estudados como fármacos. A regra de Lipinski permitiu inferir que todas as moléculas analisadas podem ser candidatas a fármacos, enquanto que as propriedades físico-químicas, farmacocinéticas e de toxicidade apresentadas ao longo deste estudo demonstram que todas as moléculas apresentam o mesmo padrão de comportamento durante o processo de absorção intestinal e de permeabilidade nas células Caco-2.

Durante o estudo *in silico*, constatou-se que a dicentrina é o composto que mais se destaca em relação aos demais, haja vista que sua estabilidade e seus resultados no teste de AMES permitem concluir que a mesma é a molécula com maior potencial de aplicação como fármaco. Nesse sentido, pode-se direcionar a mesma para maiores testes experimentais, com o intuito de verificar sob quais condições ela pode ser utilizada pela sociedade.

5. REFERÊNCIAS

- BRUNETON, J. *Farmacognosia. Fitoquímica. Plantas Medicinales*. 2^a ed. Zaragoza: Editora Acribia, 2001.
- CUNHA, E. L. *et al.* Computational investigation of antifungal compounds using molecular modeling and prediction of ADME/tox properties. *Journal of Computational and Theoretical Nanoscience*, v. 12, n. 10, p. 3682–3691, 1 out. 2015.
- FERNANDES, T. M. *Plantas medicinais: memória da ciência no Brasil*. Editora FIOCRUZ, 2014.
- FLEMING, I. *Frontier Orbitals and Organic Chemical Reactions*. 1^a ed. New York: Wiley, 1976. 256 p.
- KAPETANOVIC, I. M. Computer-aided drug discovery and development (CADD): In silico-chemico-biological approach. *Chemico-Biological Interactions*, v. 171, n. 2, p. 165–176, jan. 2008.
- LAGUNIN, A. *et al.* PASS: prediction of activity spectra for biologically active substances. *Bioinformatics*, v. 16, n. 8, p. 747–748, 1 ago. 2000.
- LEE, S. K. *et al.* The PreADME Approach: Web-based program for rapid prediction of physico-chemical, drug absorption and drug-like properties. *EuroQSAR 2002 Designing Drugs and Crop Protectants: Processes, Problems and Solutions*. v. 2003. p. 418–420, 2003.



CONGRESSO BRASILEIRO
DE ENGENHARIA QUÍMICA EM
INICIAÇÃO CIENTÍFICA

21-24 Julho de 2019
Uberlândia/MG



- LIPINSKI, C. A. *et al.* Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 23, n. 1–3, p. 3–25, jan. 1997.
- LORENZI, H. *Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil*. Nova Odessa: Plantarum, 1992. 352 p
- MOREIRA, R. R. D. *et al.* Avaliação da atividade mutagênica do extrato etanólico bruto de *Paepalanthus latipes* (Eriocaulaceae) e dos compostos flavonoídicos 7-metoxilados relacionados. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 12, n. 1, p. 11–19, 2002.
- PAJOUHESH, H.; LENZ, G. R. Medicinal chemical properties of successful central nervous system drugs. *NeuroRx*, v. 2, n. 4, p. 541–553, out. 2005.
- PARKER, A. G. *et al.* Antinociceptive effects of the aqueous extract of *Brugmansia suaveolens* flowers in Mice. *Biological Research for Nursing*, v. 8, n. 3, p. 234–239, 2007.
- PÉREZ, M. A. C. *et al.* A topological sub-structural approach for predicting human intestinal absorption of drugs. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 39, n. 11, p. 905–916, nov. 2004.
- POROIKOV, V. V. *et al.* PASS Biological Activity Spectrum Predictions in the Enhanced Open NCI Database Browser. *Journal of Chemical Information and Computer Sciences*, v. 43, n. 1, p. 228–236, 13 jan. 2003.
- SANTOS, C. B. R. *et al.* Molecular Modeling: Origin, Fundamental Concepts and Applications Using Structure-Activity Relationship and Quantitative Structure-Activity Relationship. *Reviews in Theoretical Science*, v. 2, n. 2, p. 91–115, 1 jun. 2014.
- SIMÕES, C. M. O. *et al.* *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 4^a ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora UFRS/ UFSC, 2004.
- SOUZA, T. N. V. *et al.* Adsorption of basic dyes onto activated carbon: Experimental and theoretical investigation of chemical reactivity of basic dyes using DFT-based descriptors. *Applied Surface Science*, v. 448, p. 662–670, ago. 2018.
- YAZDANIAN, M. *et al.* Correlating partitioning and Caco-2 cell permeability of structurally diverse small molecular weight compounds. *Pharmaceutical Research*, v. 15, n. 9, p. 1490–1494, 1998.
- ZANIN, S. M. W.; LORDELLO, A. L. L. Alcalóides aporfinóides do gênero *Ocotea* (Lauraceae). *Química Nova*, v. 30, n. 1, p. 92–98, fev. 2007.