

13º Congresso de Inovação, Ciência e Tecnologia do IFSP - 2022

ESTUDO *IN SILICO* DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DOS CONSTITUINTES DAS ESPÉCIES *PLINIA EDULIS*, *PLINIA PERUVIANA* E *PLINIA GLOMERATA*

LEANDRO REIS DE SENA¹, THIAGO HENRIQUE SANTANA BORGES², JONAS DE OLIVEIRA JUNIOR², DANIELA CRISTINA FERNANDES⁴

¹ Graduando no curso de Licenciatura em Química, Bolsista PIBIFSP, IFSP, Câmpus Matão, leosena15@hotmail.com.

² Graduando no curso de Licenciatura em Química, Câmpus Matão, thiago.santana@aluno.ifsp.edu.br.

³ Graduando no curso de Licenciatura em Química, Câmpus Matão, juninhoitaju1999@gmail.com.

⁴ Docente do IFSP, Campus Matão, daniaraf@ifsp.edu.br.

Área de conhecimento (Tabela CNPq): 1.06.01.05-8 Produtos Naturais

RESUMO: A produção de radicais livres de maneira desordenada pode provocar danos oxidativos em macromoléculas biológicas, alterando suas propriedades, estruturas e funções. Muitos trabalhos têm mostrado que substâncias presentes em extratos vegetais possuem a capacidade de manter o equilíbrio oxidativo do corpo dentro dos limites passíveis de regulação, impedindo a geração de novas patologias. Sendo assim, a detecção das propriedades antioxidantes de extratos vegetais obtido por técnicas *in silico*, como os cálculos de propriedades físico-química e a docagem molecular, constitui-se uma etapa preliminar imprescindível para o descobrimento de novos candidatos à fármacos. O presente trabalho tem como objetivo estudar o perfil antioxidante dos constituintes de *Plinia edulis*, *Plinia peruviana* e *Plinia glomerata* utilizando como receptor a mieloperoxidase, que é uma enzima envolvida na produção de espécies reativas de oxigênio. Os cálculos dos parâmetros físico-químicos foram realizados com a utilização do programa *Molinspiration*. A docagem molecular foi realizada em dois programas (UCSF Chimera e AutoDock Vina) e os valores de *scores* obtidos foram utilizados nos estudos das relações entre a estrutura e atividade antioxidante dos constituintes das espécies de *Plinia*. Dentre os compostos analisados, o ácido corosólico obteve o maior destaque, apresentando bons valores de parâmetros físico-químicos e de ancoramento molecular.

PALAVRAS-CHAVE: jabuticaba; cambucá; estudo computacional; docagem molecular.

IN SILICO STUDY OF THE ANTIOXIDANT ACTIVITY OF THE CONSTITUENTS OF *PLINIA EDULIS*, *PLINIA PERUVIANA* AND *PLINIA GLOMERATA* SPECIES

ABSTRACT: The production of free radicals in a disorderly manner can cause oxidative damage to biological macromolecules, altering their properties, structures and functions. Many studies have shown that substances present in plant extracts have the ability to maintain the oxidative balance of body within the limits that can be regulated, preventing the generation of new pathologies. Therefore, the detection of the antioxidant properties of plant extracts obtained by *in silico* techniques, such as the calculation of physicochemical properties and molecular docking, constitutes an essential preliminary step for the discovery of new drug candidates. The present work aims to study the antioxidant profile of the constituents of *Plinia edulis*, *Plinia peruviana* and *Plinia glomerata* using myeloperoxidase as a receptor, which is an enzyme involved in the production of reactive oxygen species. The calculations of the physicochemical parameters were performed using the *Molinspiration* program. Molecular docking was performed in two programs (UCSF Chimera and AutoDock Vina) and the values of scores obtained were used to study the relationship between the structure and antioxidant activity of the constituents of

Plinia species. Among the compounds analyzed, corosolic acid was the most prominent, presenting good values of physicochemical parameters and molecular anchoring.

KEYWORDS: jabuticaba; cambucá; computational study; molecular docking.

INTRODUÇÃO

Diversas doenças crônicas como diabetes, doenças neurodegenerativas e cardiovasculares estão parcialmente associadas aos efeitos que a produção descontrolada de radicais livres pode ter nos sistemas biológicos (Rasheed, 2019). Neste contexto, muitos trabalhos têm utilizado os estudos *in silico*, como cálculo de parâmetros físico-químicos e a docagem molecular, para analisar as propriedades e as interações receptor-ligante relacionadas à produção de espécies reativas e, conseqüentemente, à atividade antioxidante que determinadas substâncias podem apresentar.

Em relação a estudos *in silico* das espécies *Plinia edulis*, *Plinia peruviana* e *Plinia glomerata*, muito se tem investigado a composição química dos óleos essenciais das folhas, casca dos frutos e cascas das árvores por meio de cromatografia líquida e gasosa, assim como o estudo da atividade antioxidante *in vitro* utilizando técnicas como DPPH, ABTS e poder redutor de íons ferro (Oliveira, 2021), porém estudos dos parâmetros físico-químicos e docagem molecular com alvos associados à atividade antioxidante ainda não foram relatados nas espécies.

Neste trabalho em específico, a análise dos dados virtuais servirá de base para a escolha dos extratos das espécies de *Plinia* com um maior número de substâncias com atividade antioxidante. Este filtro auxiliará nos encaminhamentos das amostras para os ensaios experimentais (DPPH), de maneira a diminuir o intervalo de tempo e custos das análises.

MATERIAL E MÉTODOS

Após uma minuciosa revisão bibliográfica no Portal de Periódicos da CAPES/MEC, Google Acadêmico, Scielo, ScienceDirect, SciFinder, Scopus e Web of Science as substâncias identificadas nas espécies *P. edulis*, *P. peruviana* e *P. glomerata* foram agrupadas de acordo com a classe estrutural para posterior estudos *in silico*. Utilizando o programa ACD/ChemSketch as estruturas moleculares foram desenhadas em 2D e em 3D. Todas as fases de construção, avaliação das moléculas, adição de átomos de hidrogênio, verificação de possíveis isômeros e análise das geometrias foram minuciosamente conferidas e otimizadas.

Para o cálculo dos parâmetros físico-químicos foi utilizado o programa Molinspiration no qual diversas propriedades moleculares [LogP, área superficial polar topológica (TPSA), peso molecular (MW), número de aceptores (*n*ON) e doadores (*n*OHNH) de ligações de hidrogênio e o número de violações da regra dos 5 de Lipinski (*n*violations)] foram calculadas. Também foi obtido a pontuação de bioatividade para alguns alvos biológicos importantes como Receptores acoplados à proteína G (GPCR), Moduladores do canal iônico (MCI), Inibidor de quinase (IK), Ligante de receptor nuclear (LRN), Inibidor de protease (IP) e Inibidor de enzima (IE). No caso, se o valor do *score* for maior que 0, a atividade da molécula é maior contra aquele determinado alvo. Se o *score* for entre -5,0 a 0,0; o valor é considerado moderadamente ativo e se o valor do *score* for menor que -5,0, a molécula é inativa (MOLINSPIRATION CHEMINFORMATICS, 2022).

Para os estudos de docagem molecular foi utilizada a estrutura cristalográfica da MPO (PDB 1DNU) (Blair-Johnson, 2001). Os ligantes desenhados em 2D obtidos pelo programa ChemSketch foram otimizados nos programas UCSF Chimera (versão 1.15) e AutoDock Vina (versão 1.1.2) e suas cargas e a minimização da energia foram calculadas utilizando o método Gasteiger.

A região do sítio ativo da enzima foi definida como uma região de coordenadas localizadas na posição do ligante NAG (X= 39.817; Y= -38.635 e Z=-5.308) e tamanho do caixote em X= 22; Y= 30 e Z= 18. Para cada complexo foi executado 10 cálculos, sendo os valores de *scores* analisados no programa UCSF Chimera e reportados em uma tabela em ordem decrescente (Figura 1C). Somente o maior *score* para cada composto foi apresentado na tabela.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os periódicos encontrados acerca das espécies de *Plinia* abordam atividades de extratos, sobretudo antinociceptiva, anti-inflamatória, antioxidante e gastroprotetora, além de abordar o isolamento dos constituintes e a identificação química dos extratos por meio de técnicas como cromatografia líquida e gasosa.

A espécie *P. edulis* apresenta como constituintes principais sesquiterpenos, tetraterpenos e flavonoides, identificados em suas folhas e frutos a partir da extração hexânica, etanólica e aquosa. A espécie *P. peruviana* apresenta como constituintes principais antocianinas, flavonoides e ácidos fenólicos. As antocianinas **cianidina-3-O-glucosídeo** e **delphinidina-3-O-glucosídeo** foram as mais citadas nos artigos. Para a espécie *Plinia glomerata* a literatura apresenta poucos trabalhos sobre a fitoquímica dos extratos vegetais. Há somente 7 artigos sobre o assunto, mostrando principalmente os constituintes das partes aéreas da planta como folhas e galhos.

Os resultados do programa *Molinspiration* quanto às características físico-químicas dos compostos foram analisados seguindo a regra de Lipinski. De acordo com Lipinski, um composto deve apresentar os seguintes resultados para ter boa biodisponibilidade: *milogP* menor ou igual a 5, TPSA menor que 140 Å, peso molecular inferior ou igual a 500 Da, máximo de 10 aceptores de ligação de hidrogênio e máximo de 5 doadores de ligação de hidrogênio (LIPINSKI, 2001). Após análise da tabela, pôde-se observar que a maioria dos compostos avaliados não infringiu a regra de Lipinski, porém compostos como **siringina-2-Glc**; **gossipetina-3,8-dimetil éter-5-O-β-glucosídeo**; **pelargonidina-3,5-diglucosídeo**; **quercetina-3-O-β-(6"-galoilglucosídeo)** e **rutina** pertencentes a espécie de *Plinia peruviana* tiveram um número de violação da regra igual a 3, decorrente principalmente do número de aceptores e doadores de ligação de hidrogênio. Tais compostos apresentam-se glicosilados, tendo, portanto, uma grande quantidade de hidroxilas, o que justifica os altos valores encontrados de aceção e doação de ligação de hidrogênio.

A análise da predição das bioatividades (ligantes de GPRCs, moduladores de canais iônicos, inibidores de quinases, ligantes de receptores nucleares, inibidores de protease e inibidores de enzimas) dos compostos identificados na espécie de *Plinia edulis* mostrou que o **ácido corosólico** apresentou os melhores resultados (valor de *score* maior que 0), principalmente para os ligantes de receptores nucleares (LRN) e inibidores de enzimas (IE). Para a espécie de *Plinia peruviana* os melhores resultados foram encontrados para os flavonoides **isoquercitrina**; **kaempferol-3-O-α-arabinofuranosídeo**; **quercetina-3-O-β-galactosídeo** e **quercetina-3-O-α-arabinofuranosídeo**, principalmente para os inibidores de enzimas (IE). Já para a espécie de *Plinia glomerata* o melhor resultado foi encontrado para o **ácido quínico** em relação aos receptores nucleares (LRN) e ao sesquiterpeno **β-elemeno** em relação a inibidores de enzimas (IE). Dentre estes compostos, o **ácido corosólico** apresentou o melhor resultado, com um *score* de 0,93 para receptores nucleares (LRN), além disso, esse tetraterpeno não violou a regra de biodisponibilidade de Lipinski.

Em relação a docagem molecular, as substâncias identificadas em trabalhos anteriores na espécie de *P. edulis* foram docadas no local do sítio de ligação do composto *N*-acetil-D-glicosamina (NAG-padrão natural da MPO) seguindo o protocolo realizado por Costa e colaboradores (**Figuras 1A e 1B**) (Costa, 2018). Os valores de *scores* estão apresentados na **Figura 1C**. Os cálculos para as espécies de *P. peruviana* e *P. glomerata* estão em andamento.

Os compostos **ácido corosólico**, **ácido ursólico**, **lupeol** e **guaijarenina** (**Figura 2**) apresentaram os melhores valores de *scores*, e entre eles, o **ácido corosólico** obteve o maior destaque, com um valor de *score* de -7,45 kcal/mol (**Figura 1C**). Os compostos **ácido corosólico**, **ácido ursólico** e **lupeol** pertencem à classe dos tetraterpenos e o composto **guaijarenina** pertence à classe dos flavonoides.

A proposta da conformação de interação do **ácido corosólico** no sítio ativo da mieloperoxidase mostrou que a estabilização ocorre por meio do resíduo ASN (asparagina) e o grupo hidroxila do ácido corosólico, além das interações com os resíduos de VAL (valina), ALA (Alanina) e ARG (arginina) (**Figura 3**).

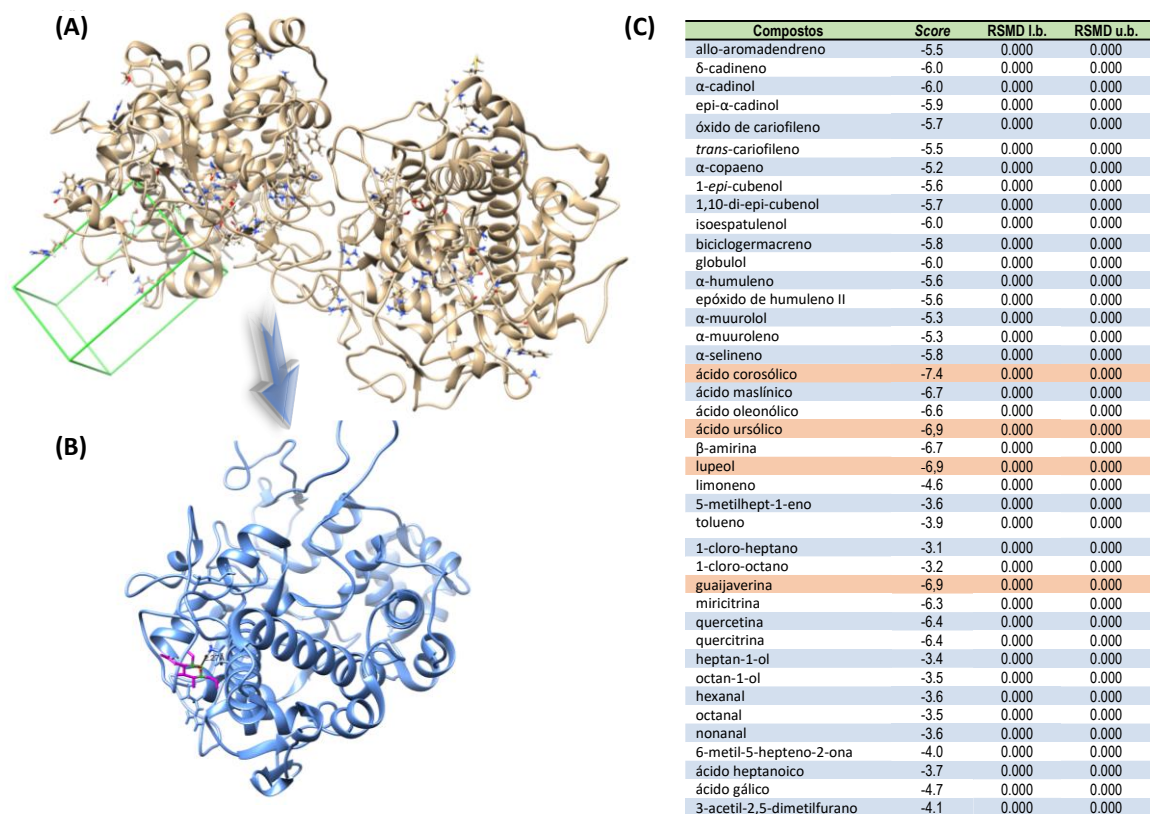


FIGURA 1. (A) Local do sítio ativo do ligante *N*-acetil-D-glicosamina (representado pelo caixote verde) na enzima mieloperoxidase (MPO), (B) Docagem molecular do ligante *N*-acetil-D-glicosamina na enzima mieloperoxidase (MPO) e (C) Resultado obtido por meio da docagem molecular dos ligantes no sítio ativo da MPO para a espécie de *P. edulis*.

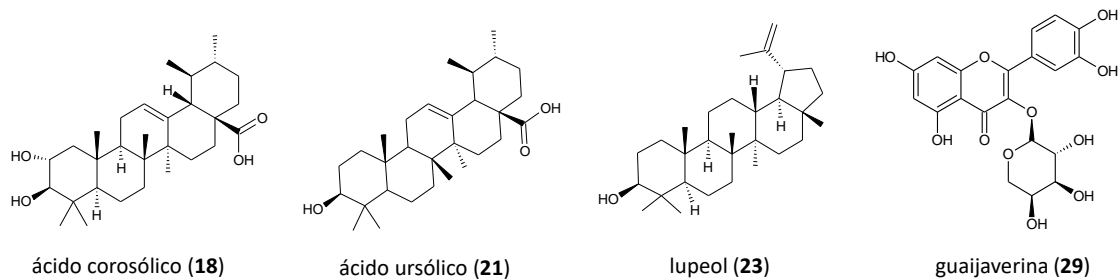


FIGURA 2. Compostos destaques na docagem molecular.

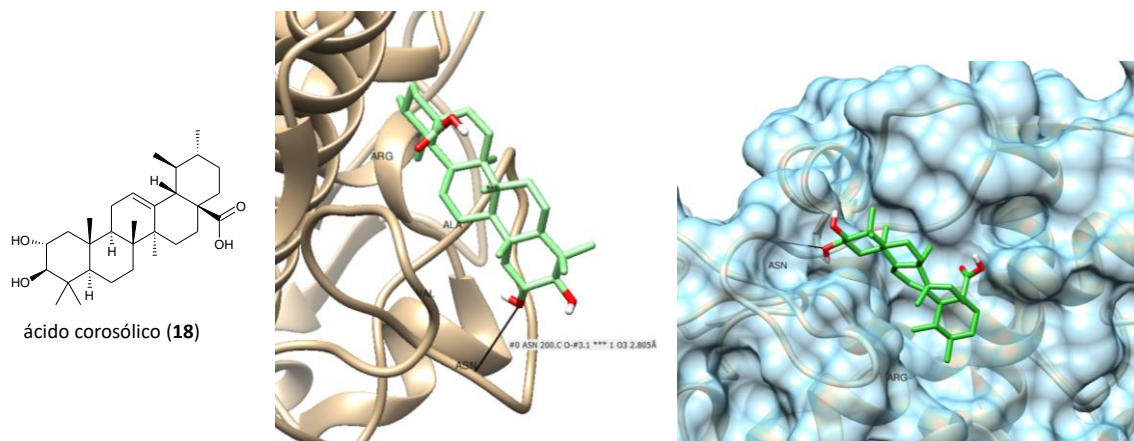


FIGURA 3. Proposta da conformação de interação do **ácido corosólico** no sítio ativo da mieloperoxidase (PDB: 1DNU).

CONCLUSÕES

A partir do cálculo dos parâmetros físico-químicos dos compostos presentes nas espécies de *Plinia* foi possível concluir que todos apresentaram boa biodisponibilidade, com exceção do fenólico glicosilado **siringina-2-Glc** e dos flavonoides **gossipetina-3,8-dimetil éter-5-O-β-glucosídeo**; **pelargonidina-3,5-diglucosídeo**; **quercetina-3-O-β-(6"-galoilglucosídeo)** e **rutina**.

Compostos da classe dos tetraterpenos (**ácido corosólico**) e dos flavonoides (**isoquercitrina**) foram os mais ativos virtualmente para os ligantes de receptores nucleares (LRN) e inibidores de enzimas (IE). Este resultado é um indício motivador para o projeto, visto que muitas enzimas como a catalase, superóxido dismutase, glutatona redutase e peroxidase estão associadas a diversos efeitos indesejados por serem capazes de proteger as moléculas de sofrerem oxidação.

Em relação a docagem molecular os compostos **ácido corosólico**, **ácido ursólico**, **lupeol** e **guaijarenina** apresentaram os melhores valores de *scores*, e entre eles, o **ácido corosólico** obteve o maior destaque, justificado por uma forte interação do resíduo ASN (asparagina) e o grupo hidroxila do ácido corosólico.

O ácido corosólico pertence a classe dos tetraterpenos, sendo encontrado principalmente nas folhas de *P. edulis*. Esta informação contribuirá na escolha das amostras a serem encaminhadas aos ensaios experimentais (DPPH), de maneira a diminuir o intervalo de tempo e custos das análises para o desenvolvimento de novos protótipos antioxidantes.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo - Campus Matão pela bolsa concedida.

REFERÊNCIAS

BLAIR-JOHNSON, M.; FIEDLER, T.; FENNA, R. Human Myeloperoxidase: structure of a cyanide complex and its interaction with bromide and thiocyanate substrates at 1.9 Å Resolution, **Biochemistry**, v. 40, p. 13990-13997, 2001.

COSTA, J. S. *et al.* An in silico study of the antioxidant ability for two caffeine analogs using molecular docking and quantum chemical methods. **Molecules**, v. 23, n. 2801; p. 1-17, 2018.

LIPINSKI, C. A.; LOMBARDO, F.; DOMINY, B. W.; FEENEY, P. J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. **Advanced Drug Delivery Reviews.**, v. 46, p. 3-26, 2001.

MOLINSPIRATION PROPERTY EXPLORER. Disponível em: <<http://www.molinspiration.com/>>. Acesso em: 22/08/2022.

OLIVEIRA, C. L. S. *et al.* Atividade antioxidante do extrato do fruto de *Plinia glomerata*. **Revista Multidisciplinar de Educação e Meio Ambiente**, v. 2, n. 3, 2021.

RASHEED, A.; AZEEZ, R. F. A. A review on natural antioxidants. **In Traditional and Complementary Medicine**, 2019.