PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS

ESCOLA DE CIÊNCIAS MÉDICAS E DA VIDA

CURSO DE MEDICINA

PROSPECÇÃO *IN SILICO* DE MOLÉCULAS ANTIDIABÉTICAS APARTIR DA ESPÉCIE *Rosmarinus officinalis*

TRABALHO DE CONCLUSAO DE CURSO (TCC)

RONAIR ROSA DIAS FILHO

GOIÂNIA, GO

2024

RONAIR ROSA DIAS FILHO

PROSPECÇÃO *IN SILICO* DE MOLÉCULAS ANTIDIABÉTICAS A PARTIR DA ESPÉCIE *Rosmarinus officinalis*

Projeto de pesquisa de Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Escola de Ciências Médicas e da Vida, da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, no curso de Medicina.

Orientador: Prof. Dr. Leonardo Luiz Borges

Co-orientadora: Profª. Ma. Isabel Cristina Carvalho Medeiros Francescantonio

GOIÂNIA, GO

À minha família e amigos pelo apoio em toda minha formação.

A todos meus professores da graduação e do período pré-vestibular, que foram de fundamentais para minha preparação e construção da minha vida profissional, contribuíram com cada pedacinho do médico que me torno.

Ao professor Dr. Leonardo Luiz Borges e a Dra. Isabel Cristina Carvalho Medeiros Francescantonio, agradeço pelo companheirismo durante anos de pesquisa, pela paciência, atenção, ensinamentos os quais foram essenciais para o desenvolvimento do TCC, da minha formação acadêmica e científica.

À Profª Dra. Sônia Maria Ribeiros dos Santos (*in memorian*), que deixou em mim o legado da luta a favor do SUS e das populações em vulnerabilidade. Contribuiu diretamente para minha formação humana na medicina, eterna gratidão e amor.

A Deus, figura substancial que permitiu e iluminou cada passo da minha vida e profissão.

AGRADECIMENTOS

A princípio, quero dedicar-me estas palavras, pois sei o quanto foi árduo trilhar este sonho pessoal. Enfrentei diversas mazelas, momentos de solidão o e saudade da minha família, visto que passei toda meu pré-vestibular e graduação longe deles. Todavia, persisti, me mantive forte e perseverante, e agora estou colhendo os frutos do meu esforço. Sei que escolhi um caminho difícil, que exige muito, que muitas vezes me faz questionar as minhas capacidades, mas aprendi que, quando se trata de realizar um sonho, não há barreiras. Nesse sentido, sou grato a minha persistência e fé. Por ter suportado a solidão, a saudade da família, as noites em claro estudando, as dificuldades financeiras e todos os outros dilemas internos e externos que surgiram no meu caminho. Eu sou mais forte hoje e feliz por compartilhar este objetivo.

Dedico este projeto a minha família, que foi base e suporte para que eu vivenciasse tudo isso. Aos meus pais, Ronair Rosa Dias e Elizaine Rodrigues de Oliveira, que abdicaram de seus desejos e sonhos para tornar os meus realidade, pelos momentos de instabilidade financeira e emocional que passaram para permitir com que eu continuasse, os agradeço e dedico esse projeto. Aos meus irmãos, que sempre me acompanharam, em especial, minha irmã Thainny, que foi minha base e auxílio durante todos meus anos de pré-vestibular, que sempre acreditou em mim. Também, ao meu cunhado Matheus, que tenho como irmão, foi crucial, junto a minha irmã, em me amparar e fazer-me família. Ao meu avô, José Francisco de Oliveira (*in memorian*) figura paterna de perseverança e equilíbrio, seu legado e sua lembrança estará sempre no meu caminho.

Aos meus familiares, em especial, meu tio Adalto e tia Maria, meus padrinhos e madrinhas e tia Marlene que me deram ampararam e acreditaram no meu potencial em busca desse sonho.

Aos meus amigos que sempre estiveram presentes direta ou indiretamente durante minha formação, como apoio emocional e companhia nos momentos tristes e de diversão.

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO 7

2.OBJETIVOS 8

2.1.OBJETIVO GERAL 8

2.2.OBJETIVOS ESPECÍFICOS 9

3.METODOLOGIA 9

4.RESULTADOS 11

5.DISCUSSÃO 20

6.CONCLUSÃO 23

RESUMO

Objetivo: Este trabalho visa elucidar a bioatividade antidiabética dos compostos encontrados na espécie *Rosmarinus officinalis*, por meio de métodos *in silico*. **Métodos**: Os compostos do óleo essencial da *Rosmarinus officinalis* foram coletados a partir de informações da literatura e codificados com auxílio de informações do PUBCHEM. A triagem de bioatividade foi realizada por auxílio do software PASS prediction e SwissTargetPrediction. Após a identificação do alvo, a sua estrutura foi obtida por meio do site Protein Data Bank (PDB) para realização do docking molecular com os compostos selecionados empregando o software GOLD suíte 5.3. **Resultados**: O óleo essencial de alecrim, apesar das 26 moléculas encontradas, tem como mais ativas biologicamente, os compostos fenólicos. Os compostos selecionados foram: ácidos rosmarínico, carnósico, betulínico, ursólico e carnosol. Na docagem molecular os ácidos rosmarínico, carnósico e carnosol ancoraram a resíduos do alvo PPAR-γ por meio de ligações convencionais de hidrogênio. Os ácidos betulínico e ursólico, apresentaram-se predominantemente hidrofóbicos e lipofílicos, interagindo por ligações de van der Waals e alquil. **Discussão**: As análises de predição e docking sugerem que os efeitos benéficos do óleo essencial de alecrim podem ser atribuídos aos seus compostos que possuem potencial para ativar o PPAR-γ, um receptor nuclear que regula o metabolismo da glicose e lipídios, e suas propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias. A ativação do PPAR-γ induz a expressão de genes envolvidos na oxidação de ácidos graxos, no transporte de colesterol e na lipogênese, resultando na redução da hiperglicemia e hiperlipidemia. Além disso, a redução do estresse oxidativo e da inflamação protege os órgãos contra danos e contribui para a melhora da função celular. **Conclusão**: A análise da docagem molecular evidenciou o potencial dos compostos fenólicos em interagir com o receptor PPAR-γ, tanto por ligações fortes (convencionais de hidrogênio), quanto fracas (van der Waals e alquil). A literatura evidenciou que ácido carnósico e o carnosol, podem ser os principais responsáveis pelo efeito farmacológico, modulando vias metabólicas e protegendo contra danos celulares.

Palavra-chave: plantas medicinais; modelagem molecular; *docking* molecular; hipoglicemiantes.

1. INTRODUÇÃO

A desordem endocrinológica conhecida como diabetes mellitus é caracterizada por uma falta absoluta ou relativa de secreção de insulina, resistência à insulina ou ambas. Esta condição representa um entrave à saúde pública e na qualidade de vida em todo o mundo, e sua prevalência está aumentando constantemente dentre as doenças crônicas não transmissíveis. Embora existam medicamentos antidiabéticos disponíveis, como a pioglitazona e rosiglitazona, que atuam aumentando a sensibilidade dos tecidos à insulina, eles ainda apresentam algumas limitações em termos de sua eficácia e segurança, além de efeitos colaterais gastrointestinais e maior risco de desenvolver hipoglicemia e ganho de peso. Além disso, a rosiglitazona está associada a um risco aumentado de problemas cardíacos, o que levou à sua restrição de uso em alguns países. (Bao et. Al, 2020).

O alecrim, conhecido cientificamente como *Rosmarinus officinalis*, é um arbusto perene, aromático, originário da região do Mediterrâneo, tem sido utilizado tradicionalmente por séculos nessa região como remédio natural, além de ser um aditivo culinário. Ele foi considerado uma planta sagrada em algumas culturas antigas, a exemplo dos egípcios, gregos e romanos, tendo sua imagem associada a simbolismos de memória, proteção e purificação.

No cenário hodierno, o uso do alecrim segue difundido na medicina popular e na fitoterapia devido aos seus benefícios, que de modo geral, apresenta atividade anti-inflamatória, antimicrobiana, indutoras da apoptose, hipoglicemiante e antioxidante (Egbuna C, et al. 2021).

Grande parte dos compostos relacionados a bioatividade da planta são extraídos e presentes no óleo essencial dessa planta, os mais notórios estão na forma de **constituintes fenólicos, como o ácido carnósico, ácido rosmarínico e o carnosol** (Bao et. Al, 2020).

O alecrim tem sido amplamente estudado no tratamento de condições endócrinas relacionadas ao diabetes, especialmente o tipo 2, que é responsável por 90% dos casos de diabetes com resistência insulínica (Egbuna C, et al. 2021). As condições estudadas

envolvem a **hiperglicemia, aterosclerose, hipertensão, neuropatia diabética, lesões hepáticas e renais.** Nesse sentido, as pesquisas farmacológicas atuais evidenciam que o óleo essencial de alecrim e seus componentes fenólicos, possuem propriedades benéficas no controle da diabetes, com significativo potencial no **controle do metabolismo da glicose, metabolismo lipídico, redução da inflamação, combate ao estresse oxidativo, neutralização da resistência insulínica, proteção hepática e renal, efeito neuroprotetor e antinoceptivo.** A par disso, a espécie se torna de grande interesse para pesquisas nessa área da endocrinologia e é candidata a terapia coadjuvante no tratamento da diabetes mellitus. (El-Huneidi W, et al. 2022; Fareed AS, et al. 2023; Xie Z, et al. 2018; Den Hartogh Dj, et al. 2022; Rasoulian B, et al. 2019).

Dentro deste contexto, o uso de produtos de origem natural tem crescido bastante, pois são fontes de compostos bioativos e, possivelmente, elegíveis a novos fármacos. Dentre essa diversidade, o alecrim foi escolhido para o estudo devido às suas amplamente reconhecidas propriedades terapêuticas e à riqueza de compostos em seu óleo essencial, já conhecidos na medicina popular. Diante de outra face, sabe-se da importância e da praticidade dos estudos *in silico*: reduzem custos, tempo de pesquisa, ao triar compostos bioativos com ferramentas digitais; reduzem a necessidade de uso de animais em experimentos; servem como ponto de partida para experimentos in vivo e in vitro; democratizam o acesso a pesquisa com projetos colaborativos e ferramentas acessíveis em diferentes regiões. Diante disso, a praticidade de reprodução da metodologia escolhida para estudo do alecrim foi um critério importante, da mesma forma que o interesse do autor pelo tema.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

- Realizar a busca *in silico* de compostos com atividade antidiabética a partir da espécie *Rosmarinus officinalis*.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar o levantamento dos compostos presentes no óleo essencial da espécie *Rosmarinus officinalis* ;
- Investigar por meio de ferramentas *in silico* aspectos farmacocinéticos das moléculas selecionadas;
- Buscar alvos moleculares associados a atividade antidiabética para essas substâncias;
- Verificar o potencial de interação entre ligante-receptor (*docking*).

3. METODOLOGIA

Este é um estudo experimental computacional, no qual foi realizada uma triagem *in silico* dos compostos encontrados no óleo essencial da espécie *Rosmarinus officinalis.* Aliado a uma revisão integrativa da literatura que visou listar as principais moléculas presentes no alecrim e a relação fisiopatológica entre o alecrim e a diabetes. Este tipo de estudo não necessita de submissão ao conselho de ética em pesquisa, visto é um experimento computacional, o qual não envolve seres vivos.

Seleção dos marcadores da espécie *Rosmarinus officinalis* L.

A seleção por compostos químicos do óleo essencial da espécie *Rosmarinus officinalis* foi desenvolvida por meio de um levantamento bibliográfico, a partir de artigos científicos publicados na base de dados Science direct, PUBMED e Lilacs por meio dos seguintes descritores e operadores booleanos: *Rosmarinus officinalis* AND Chemical Compounds, filtrando-se os últimos 5 anos e artigos gratuitos na íntegra. Dez artigos estavam de acordo com os objetivos de pesquisa e continham as moléculas encontradas no óleo essencial do alecrim.

Revisão da literatura

Foi realizado um levantamento bibliográfico visando encontrar evidências científicas que elucidem as possíveis relações fisiopatológicas das moléculas encontradas no óleo essencial do alecrim e a diabetes. Como base de dados foi utilizado o PubMed, SciELO e Lilacs, com os descritores e operadores booleanos: DIABETES AND (rosemary OR *Rosmarinus officinalis*), filtrando-se os últimos 5 anos e os artigos gratuitos na íntegra. 15 artigos estavam de acordo com os objetivos da pesquisa e continham a relação entre o alecrim e o diabetes.

Mediante a seleção dos marcadores da espécie, vinte e seis compostos foram triados. Contudo, os compostos fenólicos (os ácidos rosmarínico, carnósico, ursólico, betulínico e carnosol), foram consideradas os mais relevantes para a continuidade da pesquisa, visto que foram preditores de atividade biológica e mais citados na literatura com atividade antidiabética. Mediante a essa revisão, pode-se selecionar o PPAR-γ como principal alvo das moléculas do alecrim, com intuito de desencadear atividade anti-diabética (Bao et. Al. 2020; Pereira, Andreia S P et al. 2019; Hasei, Shun et al. 2021).

Busca de moléculas bioativas

Para estudar os principais constituintes do óleo essencial da espécie, foram empregadas ferramentas da bioinformática que apresentam as características estruturais das moléculas. Como ferramenta inicial, foi usada a PubChem Compound Summary, banco de dados de moléculas operado e mantido pelo National Center for Biotechnology Information (NCBI), que forneceu o canonical smiles de cada molécula e as suas principais características fisico-químicas para validação da estrutura como possível fármaco (peso molecular, aceitadores e doadores de hidrogênio e coeficiente de partição). O Canonical Smiles é um código de identificação molecular, o qual foi tabelado no Microsoft Excel 2019, para permitir a análise da atividade biológica e posterior docagem molecular.

De maneira conseguinte, as possíveis ações farmacodinâmicas dos compostos fenólicos tabelados foram obtidas a partir dos servidores Way 2 Drug e Swiss Target, que, por sua vez, formaram uma base de dados com informações relevantes sobre cada composto entre as quais: forma estrutural, principais atividades biológicas, entre outras. Além dos fatores citados, o Way 2 Drug, em específico, é formado por outros servidores de Pass Prediction que informam as probabilidades de interação com receptores das diferentes

regiões do corpo e em quais doenças esses sítios de ligação estão diretamente envolvidos. Ambas as plataformas serão cruciais para fornecer as principais atividades biológicas dos compostos do alecrim e seus principais alvos farmacocinéticos. A Regra de Cinco de Lipinski (RO5) foi utilizado para classificar a estrutura quanto ao perfil de biodisponibilidade por via oral, baseado nas suas propriedades moleculares (LIPINSKI, Christopher A., et al.1997).

Após isso, com o **Chem Draw Ultra 7.0** (Cambridge Soft), foi realizada a conversão de código dos compostos fenólicos encontradas no óleo essencial para estruturas 2D, posteriormente, com uso do **Discovery Studio 2021** (Biovia Corp), tais compostos foram convertidos em estruturas 3D para possibilitar, também a docagem molecular.

O alvo que apresentou relação com a atividade biológica investigada (2HFP) foi obtido no banco de dados Protein Data Bank (PDB). Os compostos com maior pontuação para a atividade anti-diabetogênica foram selecionadas para simulações de docagem molecular. O visualizador Hermes GOLD Suite 5.7.0 foi usado para preparar os receptores para o acoplamento. A região de interesse usada para o docking foi definida como todos os resíduos de proteína dentro dos ligantes de referência que acompanhavam os complexos de proteína baixados. Valores padrão de todos os outros parâmetros foram utilizados e os complexos foram submetidos a corridas de algoritmos genéticos usando a função de adequação CHEMPLP. Para a validação dos parâmetros do modelo foi realizado o redocking, utilizando o complexo ligante-proteína cristalografada e essas condições foram utilizadas para a realização do docking com os melhores ligante da espécie *Rosmarinus officinalis.*

4. RESULTADOS

A espécie *Rosmarinus officinalis* contêm vários metabólitos diferentes no seu óleo essencial, contudo, 26 dessas são significativamente encontradas e isoladas na espécie. Entre esses compostos, os compostos fenólicos do alecrim, especialmente o ácido rosmarínico, carnósico, ursólico, betulínico e o carnosol, apresentam, atividades biológicas

importantes relacionadas a atividade antidiabetogênica. Por essa razão, são candidatos promissores para o desenvolvimento de fármacos.

Tabela 1. Substâncias isoladas e relevantes, encontradas na literatura, do óleo essencial da espécie *Rosmarinus officinalis.*

Substâncias presentes no óleo essencial do Alecrim
Alfa-Pineno
Cânfora
Biciclo[3.1.1]hept3en2ona,4,6,6 trimetil, (1S)
Canfeno
1,8-Cineol
Borneol
Alfa-Terpineol
Beta-Cariofileno
Luteolina
Apigenina
Ácido Rosmarínico
Ácido Carnósico
Ácido Ursólico
Ácido Betulínico
3,4,7-dihidroxi-4,7-trimetoxiflavona
Sabineno
Beta-pineno
O-Cimeno
Gama-Terpineno
Linalol
Terpinen-4-ol
Alfa-terpineol
Acetato de Bornila
Cariofileno

Alfa-humuleno

Carnosol

Fonte: Elaborado pelo autor.

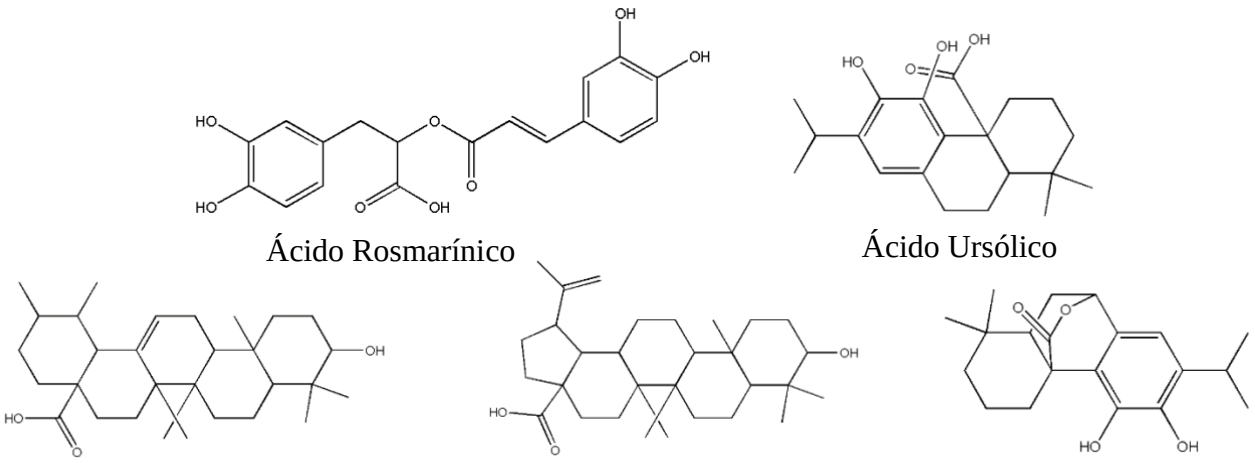


Figura 1. Estruturas bidimensionais dos compostos polifenólicos, com maiores potenciais anti-diabéticos, construídas via Chem Draw, utilizando o Canonical Smiles.

Fonte: Elaborado pelo autor.

A Regra de Cinco de Lipinski (RO5) é o método mais utilizado para prever a absorção oral de substâncias com potencialidade de agir como um fármaco. Esta regra empírica sugere que a biodisponibilidade oral de um medicamento está ligada a certas propriedades físico-químicas (LIPINSKI, Christopher A., et al.1997). A RO5 tem como base no fato de que a maioria dos medicamentos administrados via oral, disponíveis no mercado, são moléculas relativamente pequenas e moderadamente lipofílicas.

Este método propõe que, para uma molécula ser considerada um bom medicamento, ela deve atender a quatro critérios, cada um relacionado a um múltiplo de cinco:

- Um coeficiente de partição (log P ou medida de lopofilicidade) de 5 ou mais
- Massa Molecular de 500 ou menos Daltons (Da)
- No máximo 10 aceptores de ligação de hidrogênio (HBA)
- No máximo 5 doadores de ligação de hidrogênio (HBD).

Uma molécula pode violar apenas um desses critérios e ainda assim ser considerada um potencial medicamento. Nesse sentido, essas regras fornecem uma previsão confiável da biodisponibilidade oral para novas moléculas, baseado na solubilidade e permeabilidade, especialmente para aqueles absorvidos por difusão passiva (MIGNANI, Serge, et al. 2018). Visto isso, os compostos fenólicos foram analisados e classificados na **tabela 2**, segundo os critérios de Lipinski.

Tabela 2. Características dos compostos fenólicos do alecrim, de acordo com os critérios de Lipinski.

Composto	Massa (Da)	HBD	HBA	Log P
Ácido Rosmarínico	360,3	5	8	2.4
Ácido Carnósico	332,4	3	4	4.9
Ácido Betulínico	456.7	2	3	8.2
Ácido Ursólico	456,7	2	3	7.3
Carnosol	330.4	2	4	4.4

Fonte: Elaborado pelo autor.

De acordo com o método acima, todas os compostos fenólicos são favoráveis a Lipinski. Contudo, ácido ursólico e beutlínico cumpriram os critérios, enquanto o restante, teve sua medida de lipofilicidade menor que 5.

Posterior a análise com o método empírico de Lipinski, foi empregada a análise computacional, por intermédio da docagem molecular. Todavia, para validar cientificamente a precisão do programa de docking, foi realizado o Redocking. Essa metodologia, compara a posição real do ligante cristalizado a proteína alvo com a posição desse ligante docado ao sítio da mesma proteína. Neste caso, o programa GOLD Suite 5.7.0 realizou o redocking, com o ligante cristalizado 3-(4-methoxyphenyl)-n-(phenylsulfonyl)-1-[3-(trifluoromethyl)benzyl]-1h-indole-2-carboxamide na proteína 2HFP **(**Crystal Structure of PPAR-γ with N-sulfonyl-2-indole carboxamide ligands). Para esta análise, utilizou-se a função matemática CHEMPLP. Valores de RMSD, que correspondem a distância média dos átomos da molécula calculada em relação a real, variaram em menores que 2A, na unidade de angstron (6 poses). O resultado do redocking está representado na **Figura 2.**

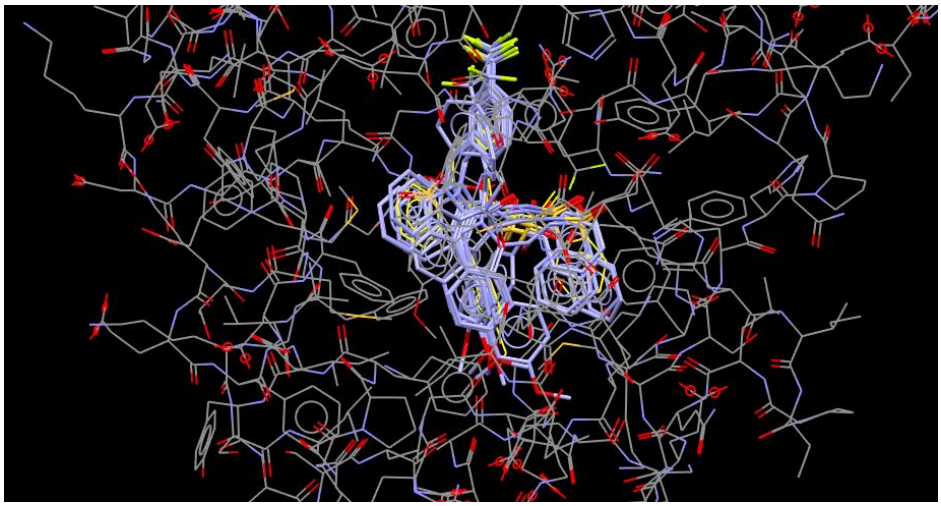
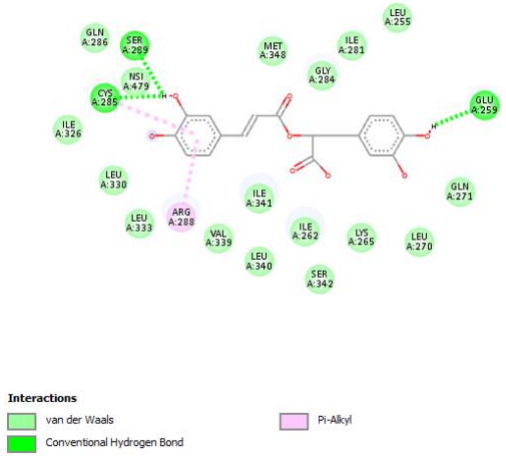


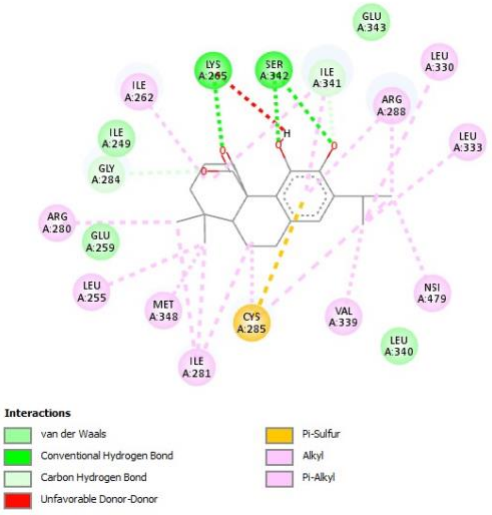
Figura 2. Redocking do ligante 3-(4-Methoxyphenyl)-N-(Phenylsulfonyl)-1-[3-(Trifluromethyl)Benzy]-1H-Indole-2-Carboxamide ao alvo PPAR-γ (2HFP).

Fonte: Elaborado pelo autor.

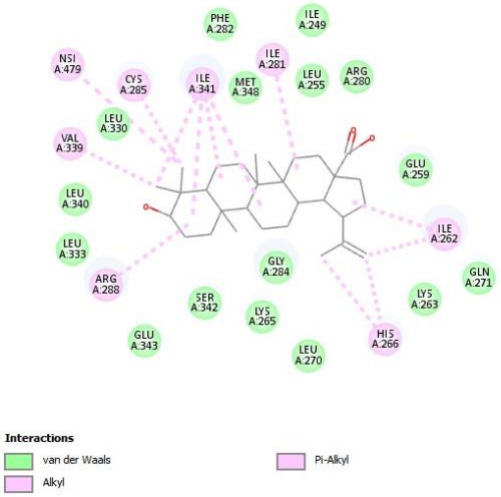
Após a validação do método pelo redocking, os 5 compostos fenólicos foram docados junto ao alvo referente ao PPAR-γ (2HFP) seguindo os mesmos parâmetros do modelo empregado no redocking. Os resultados estão presentes na **Figura 3.**



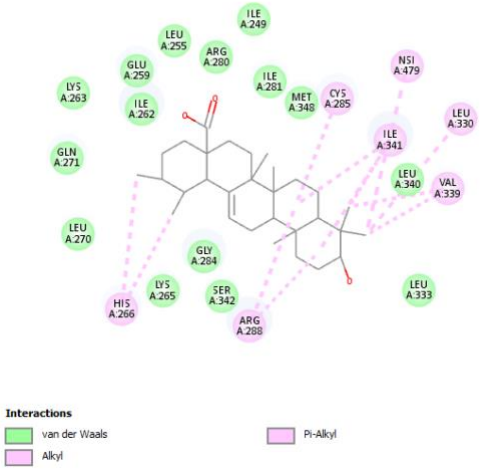
Ácido Rosmarínico



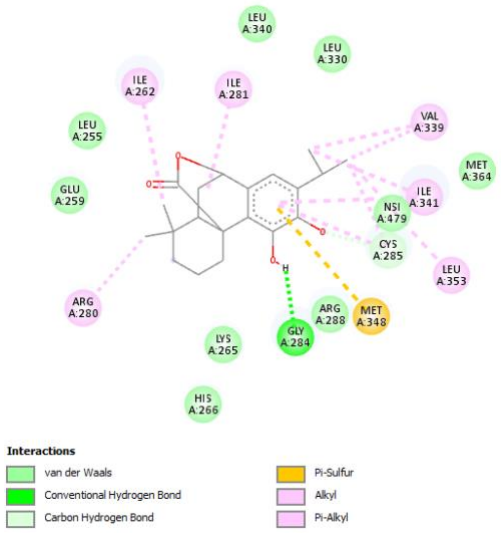
Ácido Carnósico



Ácido Betulínico



Ácido Ursólico



Carnosol

Figura 3. Docking dos compostos fenólicos do alecrim na proteína PPAR-γ (2HFP) formuladas tridimensionalmente via software PYMOL 1.1R1.

Fonte: Elaborado pelo autor.

O docking apresenta os potenciais de interação dos compostos fenólicos com a proteína PPAR-γ. A **Figura 3** revela o mapa tridimensional das interações que podem ocorrer entre os ácidos rosmarínico, carnósico, betulínico, ursólico e o carnosol ao 2HFP, estrutura cristalina do PPAR-γ.

Consoante a análise, a ligação de hidrogênio convencional é a principal interação intermolecular que sustenta a ligação entre os compostos fenólicos e o PPAR-γ, ou seja, é crucial para a interação fármaco-alvo. Ela influencia a farmacodinâmica (reconhecimento molecular, estabilidade do complexo, ativação/inibição do receptor) e a farmacocinética (absorção, distribuição, metabolismo, excreção) dos fármacos.As principais interações que a análise sugere serem capazes de suportar a estrutura no sítio ativo estão representadas na **Tabela 3.**

Apesar dos ácidos betulínico e ursólico não apresentarem ligações convencionais de hidrogênio, isso não exclui a possibilidade de ancoragem das moléculas com o alvo. A estrutura de ambos os ácidos, betulínico e ursólico, são predominantemente hidrofóbicas e

lipofílicas, o que favorece interações com resíduos apolares da cavidade de ligação do PPAR-γ. As interações do tipo van der Waals e alquil (destacadas em verde e rosa nas imagens) são evidências dessas interações hidrofóbicas.

Tabela 3. Ligações convencionais de hidrogênio entre os compostos fenólicos do alecrim e os resíduos do PPAR-γ.

Compostos	Resíduos
Ácido Rosmarínico	CYS A:285, SER A:289, GLU A:259
Ácido Carnósico	LYS A:265, SER A:342
Ácido Betulínico	Ausentes
Ácido Ursólico	Ausentes
Carnosol	GLY A:284

Fonte: Elaborado pelo autor.

A princípio, a literatura indica que o carnosol, apresenta uma atividade significativa de inibição da α-glicosidase, uma enzima crucial na digestão de carboidratos (Ma et al., 2020). A inibição da α-glicosidase, por sua vez, retarda a absorção de glicose, auxiliando no controle da glicemia pós-prandial e no controle da diabetes tipo 2. Além disso, o ácido carnósico e o carnosol, demonstraram inibir a expressão de genes-chave na gliconeogênese, como G6PC e PCK1, reduzindo a produção de glicose pelo fígado (Hasei et al., 2021).

Por outro lado, a resistência à insulina, característica do diabetes tipo 2, também é atenuada pelos compostos fenólicos do alecrim. O ácido rosmarínico, especialmente, demonstrou restaurar a fosforilação do Akt estimulada pela insulina e a translocação do transportador de glicose GLUT4 para a membrana plasmática em células musculares. O AKT fosforilado promove a translocação do transportador de glicose GLUT4 para a membrana plasmática, facilitando a entrada de glicose nas células e reduzindo os níveis de

glicose no sangue. (Den Hartogh et al., 2023). O extrato de alecrim e o ácido carnósico também aumentam a captação de glicose em células musculares através da ativação da AMPK, de maneira semelhante ao ácido rosmarínico. (Naimi et al., 2017; Tsai et al., 2014).

Além da atuação no metabolismo da glicose, a planta estudada também atua na regulação do metabolismo lipídico, inibindo a expressão de genes lipogênicos como FAS e ACC, reduzindo, dessa forma, a síntese de ácidos graxos no fígado (Hasei et al., 2021). Os compostos fenólicos ainda induzem a oxidação de ácidos graxos no fígado e músculo esquelético, por meio da ativação da AMPK e da expressão de genes relacionados à biogênese mitocondrial e à oxidação lipídica (Den Hartogh et al., 2023; Hasei et al., 2021; Jayanthy et al., 2017). O ácido carnósico, isoladamente, também é capaz de inibir a lipólise no tecido adiposo, reduzindo os níveis de ácidos graxos livres circulantes e melhorando a sensibilidade à insulina (Tsai et al., 2014).

Adicionalmente ao impacto direto na fisiopatologia da diabetes, as propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias desempenham um papel importante na proteção contra o diabetes e suas complicações. Essas propriedades contribuem para a proteção das células β-pancreáticas contra danos oxidativos e inflamação, o que melhora a função pancreática e a secreção de insulina, figura crucial na fisiopatologia da diabetes (Bakirel et al., 2009; Pereira et al., 2023; Sánchez-Quintero et al., 2022; Xia et al., 2017). Nesse sentido, estudos in vivo, demonstraram a redução do estresse oxidativo em tecidos renais de ratos diabéticos, indicando um potencial efeito nefroprotetor (Fareed et al., 2023).

Outros estudos em modelos animais e em pacientes diabéticos demonstraram também a capacidade do alecrim em reduzir a hiperglicemia, a hiperlipidemia e de melhorar a sensibilidade à insulina (Azimi et al., 2014; El-Beeh et al., 2019). O ácido carnósico, demonstrou sua ação no metabolismo lipídico, sendo capaz de inibir a acumulação de lipídios no fígado e promover a oxidação de ácidos graxos (El-Beeh et al., 2019; Hasei et al., 2021).

O ácido carnósico (CA), apresentou potencial de atenuação na resistência à insulina induzida por palmitato em células musculares L6 e adipócitos 3T3-L1. Ele pôde restaurar a captação de glicose estimulada por insulina e os níveis de GLUT4 na membrana plasmática, além de reduzir a fosforilação/ativação de JNK, mTOR e p70S6K, que são

agentes pró resistência insulínica, e ativar a AMPK, agente sensibilizador insulínico (DEN HARTOGH et al., 2022). O CA não apenas protege as células β pancreáticas contra danos induzidos por estreptozotocina, como também aumenta a secreção e o conteúdo de insulina, a captação de glicose e diminuindo a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) e malondialdeído (MDA) (EL-HUNEIDI et al., 2022).

Embora os compostos fenólicos sejam mais notórios, a cânfora, um terpenóide presente no alecrim, também é mencionada, com ação no aumento na atividade das enzimas antioxidantes e a redução do estresse oxidativo em ratos diabéticos (DRIKVANDI et al., 2020). Um estudo etnobotânico identificou o alecrim como uma das 33 plantas medicinais utilizadas no noroeste da Argélia para tratar o diabetes mellitus, reforçando seu uso tradicional no tratamento da doença (LAKHDARI et al., 2019).

5. DISCUSSÃO

Os resultados da docagem molecular evidenciam que os compostos fenólicos presentes no óleo essencial da espécie *Rosmarinus Officinalis* são capazes de interagir mais fortemente com o receptor PPAR-γ (2HFP) por meio de ligações de hidrogênio convencionais, que são cruciais para especificidade, direcionalidade e integração de um fármaco com seu alvo. O ácido rosmarínico forma ligações de hidrogênio com os resíduos CYS A:285, SER A:289, GLU A:259 do PPAR-γ. O ácido carnósico interage com os resíduos LYS A:265, SER A:342 e o carnosol com o resíduo GLY A:284. A interação estável dos compostos fenólicos com o PPAR-γ pode levar à ativação deste receptor e à transcrição de genes envolvidos no metabolismo da glicose e dos lipídios, assim, contribuindo para o manejo da diabetes mellitus tipo 2. Os ácidos betulínico e ursólico não apresentam ligações convencionais de hidrogênio, contudo, a estrutura de ambos é predominantemente hidrofóbica, o que favorece interações com resíduos apolares da cavidade de ligação do PPAR-γ. Essas interações são do tipo van der Waals e alquil. Nessa lógica, a presença de ligações mais fracas entre o fármaco e o receptor PPAR-γ também é relevante, pois permite que o medicamento se desligue do receptor com mais facilidade. Essa característica é vantajosa, já que uma ligação muito forte e prolongada pode resultar em uma ativação excessiva do PPAR-γ, elevando a probabilidade de efeitos colaterais indesejáveis, como ganho de peso e edema.

A ativação do PPAR-γ induz a expressão de genes envolvidos na oxidação de ácidos graxos, no transporte do colesterol e na lipogênese, como o Acil-coa oxidase, Lipoproteína lipase, Ácido graxo sintase, respectivamente, resultando na redução da hiperglicemia e da hiperlipidemia, características comuns no diabetes (PEREIRA et al., 2023).

Estudos anteriores já demonstraram que extratos de alecrim e seus compostos fenólicos, como o ácido carnósico e o carnosol, são capazes de ativar o PPAR-γ e, consequentemente, melhorar a sensibilidade à insulina e reduzir a glicemia em modelos animais. Nesses estudos, os compostos supramencionados promovem a remoção de radicais reativos de nitrogênio (isto é, peroxinitrito e dióxido de nitrogênio) e a prevenção da nitração de bases de DNA. Isso é importante, uma vez esses eventos causam estresse oxidativo, danos ao DNA, que contribuem para complicações da diabetes, como retinopatia, nefropatia. Ainda, contribuem para a aterosclerose, visto que a nitração do LDL acelera esse processo. Assim, o potencial modo de ação desses compostos, provavelmente engloba a via intracelular envolvida na homeostase da glicose ou na sinalização da insulina (EL-BEEH et al., 2019; MA et al., 2020).

O ácido carnósico (AC), um dos principais compostos bioativos do alecrim, desempenha um papel relevante na prevenção e tratamento do diabetes mellitus tipo 2 (DM2) (Ma et al., 2020). Esse composto fenólico atua como um inibidor potente da α-glicosidase, uma enzima crucial na digestão de carboidratos, retardando a absorção de glicose e reduzindo os níveis de glicose após as refeições (Ma et al., 2020). Além disso, o AC demonstrou ativar a via de sinalização da proteína quinase ativada por AMP (AMPK), que desempenha um papel crucial na regulação do metabolismo energético e na sensibilidade à insulina (El-Beeh et al., 2019). A ativação da AMPK pelo AC pode suprimir a expressão de genes envolvidos na gliconeogênese e lipogênese no fígado, resultando em uma redução na produção de glicose e no acúmulo de lipídios, respectivamente (Hasei et al., 2021).

Um estudo específico demonstrou que o extrato de alecrim enriquecido com ácido carnósico melhorou significativamente a tolerância à glicose, promoveu a perda de peso e reduziu os níveis de colesterol total e triglicerídeos em camundongos obesos (Zhao et al.,

2015). Além disso, outro estudo relatou que o ácido carnósico protegeu as células β pancreáticas contra danos induzidos pela estreptozotocina, um composto que causa diabetes em modelos animais (El-Huneidi et al., 2022). Essa proteção foi atribuída à capacidade do ácido carnósico de inibir a apoptose e melhorar a secreção de insulina e a captação de glicose.

Esses estudos, em conjunto, sugerem que o ácido carnósico possui um efeito antidiabético multifacetado, atuando em diferentes vias e alvos moleculares. Ao inibir a α-glicosidase, ativar a AMPK e proteger as células β pancreáticas, o ácido carnósico pode ajudar a controlar os níveis de glicose no sangue, melhorar a sensibilidade à insulina e reduzir o risco de complicações do diabetes. Além disso, a capacidade do ácido carnósico de modular o metabolismo lipídico e reduzir o estresse oxidativo também contribui para seus efeitos benéficos no tratamento do DM2.

Portanto, os resultados deste estudo reforçam as evidências de que o alecrim e seus compostos fenólicos são candidatos promissores para o desenvolvimento de fármacos para o tratamento do diabetes. A interação com o PPAR-γ, demonstrada pela docagem molecular, sugere um mecanismo de ação promissor para o desenvolvimento de novas terapias antidiabéticas.

É importante ressaltar que, embora o foco deste estudo tenha sido a interação de compostos fenólicos com o PPAR-γ, estes compostos podem interagir com múltiplos alvos moleculares. Essa característica pode representar tanto uma vantagem, ao potencializar os efeitos terapêuticos, quanto uma limitação, devido à possibilidade de efeitos colaterais e menor especificidade no tratamento.

Considerando a natureza multialvo dos compostos fenólicos, este estudo *in silico*, embora valioso para a triagem inicial e identificação de potenciais candidatos a fármacos, apresenta limitações inerentes à sua abordagem computacional. Para uma avaliação mais completa dos compostos identificados, são importante estudos in vitro e in vivo, que permitam investigar:

- Possíveis efeitos sinérgicos entre os compostos.
- Toxicidade e segurança em modelos celulares e animais.

- Farmacocinética (absorção, distribuição, metabolismo e excreção) em modelos animais.
- Farmacodinâmica (efeitos e mecanismos de ação) em modelos animais de diabetes tipo 2.

A realização desses estudos subsequentes permitirá validar a eficácia e a segurança dos compostos identificados, além de fornecer informações essenciais para o desenvolvimento de novas terapias para o diabetes tipo 2.

6. CONCLUSÃO

De acordo com a literatura, a ativação do PPAR-γ pelo ácido carnósico e carnosol parece ter um mecanismo chave para seus efeitos benéficos, modulando a expressão de genes-alvo envolvidos no metabolismo da glicose e lipídios, além de reduzir a inflamação. Além disso, o óleo de alecrim demonstrou potencial para proteger o DNA contra danos genotóxicos, um achado relevante para a prevenção de complicações a longo prazo da diabetes.

O estudo *in silico* da *Rosmarinus Officinalis*, abordado neste trabalho, elegeu os compostos fenólicos do óleo essencial do alecrim como metabólitos com atividade antidiabética, por meio de uma possível alteração do metabolismo lipídico via ligação ao PPAR-γ. O docking dos compostos fenólicos mostrou ancoragem dessas moléculas com resíduos do alvo, especialmente por meio de ligações mais fortes, a ligação convencional de hidrogênio, e ligações mais breves, as de van der Waals e Alquil.

Portanto, fica evidente o potencial terapêutico do óleo essencial de alecrim na prevenção e tratamento da DM2 e suas complicações. Seus compostos bioativos, especialmente os fenólicos, demonstraram a capacidade de interferir no metabolismo lipídico e glicêmico, atenuar o estresse oxidativo, a inflamação e a resistência à insulina. Visto isso, devido às atividades dessa espécie, essas moléculas poderiam atuar como agonistas do PPAR-γ, assim, desempenhando atividade terapêutica no diabetes mellitus tipo 2. Por conseguinte, os resultados deste estudo apresentam possibilidades terapêuticas para a diabetes mellitus tipo 2, e perspectivas para futuros estudos em

modelos in vitro e in vivo com moléculas isoladas a partir da espécie *Rosmarinus officinalis*. Tais estudos são cruciais para confirmar esses achados promissores, determinar a dose ideal e a segurança do uso do óleo essencial de alecrim como terapia adjuvante para o tratamento da diabetes.

.

REFERÊNCIAS

AZIMI, Paria et al. Effects of Cinnamon, Cardamom, Saffron, and Ginger Consumption on Markers of Glycemic Control, Lipid Profile, Oxidative Stress, and Inflammation in Type 2 Diabetes Patients**. The Review of Diabetic Studies**, v. 11, n. 3-4, p. 258-266, 2014.

BAKİREL, T. et al. In vivo assessment of antidiabetic and antioxidant activities of rosemary (Rosmarinus officinalis) in alloxan-diabetic rabbits**. Food and Chemical Toxicology**, v. 47, n. 3, p. 742-749, mar. 2009.

BAO, Tian-Qi et al. Antidiabetic effects and mechanisms of rosemary (Rosmarinus officinalis L.) and its phenolic components. **The American journal of Chinese medicine**, v. 48, n. 06, p. 1353-1368, 2020.

DEN HARTOGH, Danja J. et al. Carnosic acid attenuates the free fatty acid-induced insulin resistance in muscle cells and adipocytes. **Cells**, v. 11, n. 1, p. 167, 2022.

DEN HARTOGH, Danja J.; VLAVCHESKI, Filip; TSIANI, Evangelia. Muscle Cell Insulin Resistance Is Attenuated by Rosmarinic Acid: Elucidating the Mechanisms Involved. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 6, p. 5094, 2023.

DRIKVANDI, Parivash; BAHRAMIKIA, Seifollah; ALIREZAEI, Masoud. Modulation of the antioxidant defense system in liver, kidney, and pancreas tissues of alloxan-induced diabetic rats by camphor. **Journal of Food Biochemistry**, v. 44, n. 12, p. e13527, 2020.

EGBUNA, Chukwuebuka et al. Bioactive compounds effective against type 2 diabetes mellitus: a systematic review. **Current topics in medicinal chemistry**, v. 21, n. 12, p. 1067-1095, 2021.

EL-BEEH, Mohamed E. et al. Ameliorative impact of cold-pressed Rosmarinus officinalis oil against liver toxicity and genotoxic effects in streptozotocin-induced diabetic rats and their offspring. **Journal of food biochemistry**, v. 43, n. 7, p. e12905, 2019.

EL-HUNEIDI, Waseem et al. Carnosic acid protects INS-1 β-cells against streptozotocin-induced damage by inhibiting apoptosis and improving insulin secretion and glucose uptake. **Molecules**, v. 27, n. 7, p. 2102, 2022.

FAREED, Shimaa A. et al. Assessment of Effects of Rosemary Essential Oil on the Kidney Pathology of Diabetic Adult Male Albino Rats. **Cureus**, v. 15, n. 3, 2023.

HASEI, Shun et al. Carnosic Acid and Carnosol Activate AMPK, Suppress Expressions of Gluconeogenic and Lipogenic Genes, and Inhibit Proliferation of HepG2 Cells. **International Journal of Molecular Sciences**, [S. l.], v. 22, n. 8, p. 4040, 2021.

JAYANTHY, N.; SUBRAMANIAN, S. P.; MANIAN, S. Rosmarinic acid, a polyphenol from rosemary (Rosmarinus officinalis L.), enhances glucose uptake and inhibits adipogenesis in 3T3-L1 adipocytes**. Journal of cellular biochemistry**, v. 118, n. 11, p. 3471-3483, nov. 2017.

LAKHDARI, Aissa et al. Ethnobotanical study of medicinal plants used for the treatment of Diabetes mellitus in Sidi Bel Abbes region (North-west Algeria). **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, v. 18, n. 4, p. 392-410, 2019.

LIPINSKI, C. A., LOMBARDO, F., DOMINY, B. W., & FEENEY, P. J. (1997). Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. **Advanced drug delivery reviews**, 23(1-3), 3-25.

MA, Yan-Yan et al. Identification of bioactive compounds that contribute to the α-glucosidase inhibitory activity of rosemary**. Food & function**, v. 11, n. 2, p. 1692-1701, 2020.

MIGNANI, S., RODRIGUES, J., TOMAS, H., JALAL, R., SINGH, P. P., MAJORAL, J. P., & VISHWAKARMA, R. A. (2018). Present drug-likeness filters in medicinal chemistry during the hit and lead optimization process: how far can they be simplified?. **Drug discovery today**, 23(3), 605-615.

NAIMI, Mohammad et al. Rosemary Extract as a Potential Anti-Hyperglycemic Agent: Current Evidence and Future Perspectives. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2017, 2017

NGO, Yi Lei; LAU, Cher Haan; CHUA, Lee Suan. Review on rosmarinic acid extraction, fractionation and its anti-diabetic potential. **Food and Chemical Toxicology**, v. 121, p. 687-700, 2018.

Pereira, Andreia S P et al. "Evaluation of the Anti-Diabetic Activity of Some Common Herbs and Spices: Providing New Insights with Inverse Virtual Screening." **Molecules** (Basel, Switzerland) vol. 24,22 4030, 2019.

PEREIRA, R. M. et al. PPARγ and Its Role in the Pathogenesis of Diabetic Cardiomyopathy. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 1, p. 648, 2023.

RASOULIAN, Bahram et al. Neuroprotective and antinociceptive effects of rosemary (Rosmarinus officinalis L.) extract in rats with painful diabetic neuropathy. **The journal of physiological sciences**, v. 69, n. 1, p. 57-64, 2019

SÁNCHEZ-QUINTERO, A. P. et al. Rosemary (Rosmarinus officinalis L.) and its phenolic diterpenes: A review of their anti-inflammatory, antioxidant and antitumor effects**. Antioxidants**, v. 11, n. 2, 393, fev. 2022.

SHAMSHOUM, Hesham et al. Rosemary extract activates AMPK, inhibits mTOR and attenuates the high glucose and high insulin-induced muscle cell insulin resistance. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, v. 46, n. 7, p. 819-827, 2021.

TSAI, Chia-Wen et al. The mechanisms of carnosic acid attenuates tumor necrosis factor-α-mediated inflammation and insulin resistance in 3T3-L1 adipocytes. **Molecular nutrition & food research** vol. 58,4, 2014.

VLAVCHESKI, Filip; TSIANI, Evangelia. Attenuation of free fatty acid-induced muscle insulin resistance by rosemary extract. **Nutrients**, v. 10, n. 11, p. 1623, 2018.

XIA, C. et al. Rosmarinic acid attenuates diabetic nephropathy in rats through inhibiting oxidative stress and inflammation**. The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 41, p. 11-19, jan. 2017.

XIE, Zhisheng et al. Carnosic acid improves diabetic nephropathy by activating Nrf2/ARE and inhibition of NF-κB pathway. **Phytomedicine**, v. 47, p. 161-173, 2018.

ZHAO, T. et al. Carnosic acid ameliorates obesity-induced insulin resistance and glucose intolerance in high-fat diet-fed mice**. PLOS ONE**, v. 10, n. 6, e0129925, jun. 2015.