

=

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS

ESCOLA DE CIÊNCIAS MÉDICAS E DA VIDA

ESPECTRO DE BIOATIVIDADE *IN SILICO* DOS COMPOSTOS MAJORITÁRIOS
ENCONTRADOS NA ESPÉCIE *ACMELLA OLERACEA*

GABRIELA MUNIZ FERREIRA DOS SANTOS

JÚLIA MARIA SILVA CAMPOS CAJANGO

GOIÂNIA - GO

2024

GABRIELA MUNIZ FERREIRA DOS SANTOS
JÚLIA MARIA SILVA CAMPOS CAJANGO

ESPECTRO DE BIOATIVIDADE *IN SILICO* DOS COMPOSTOS MAJORITÁRIOS
ENCONTRADOS NA ESPÉCIE *ACMELLA OLERACEA*

Orientador: Prof. Dr. Leonardo Luiz Borges

GOIÂNIA - GO

RESUMO.

A espécie *Acmella oleracea* é utilizada popularmente e possui diversas atividades biológicas a ela associadas, como efeitos analgésico, anti-inflamatório e anestésico. O presente estudo visa a análise molecular com objetivo de avaliar potenciais atividades biológicas dos compostos majoritários da espécie *Acmella oleracea*, por meio de ferramentas *in silico*, com foco em identificar os compostos catalogados com maior potencial anestésico. As plataformas e softwares de metodologia Pubchem, plataforma PASS Online, SwissADME, SuperPred Webserver, Protein Data Bank (PDB), visualizador Hermes GOLD Suite 5.7.0, permitiram a avaliação das possíveis interações e mecanismos de ação das substâncias selecionados a partir da espécie *Acmella oleracea* no organismo humano. O estudo permitiu identificar o ácido caféico como molécula mais promissora devido sua capacidade de ancoragem no sítio ativo do receptor agonista GABA. No entanto, para maiores conclusões e, conseqüentemente, para a possível triagem de novos anestésicos, faz-se necessário análise posterior do composto *in vitro* e *in vivo*.

Palavra-chave: *Acmella oleracea*; *in silico*; anestésico.

1. INTRODUÇÃO.

Acmella oleracea, popularmente conhecida como "jambu," mas também como "agrião-do-pará," "agrião-bravo," "agrião-do-brasil". "agrião-do-norte" ou "botão-de-ouro", é uma erva medicinal do gênero *Acmella* e da família *Asteraceae*, que foi documentada pela primeira vez em 1896, pelo botânico irlandês Augustine Henry. Existem mais de 30 espécies deste gênero no mundo, mas a mais comum é a *Acmella oleracea*. O jambu é uma espécie encontrada nas regiões tropicais, próximas à linha do Equador, na África, Ásia e na América do sul. Trata-se de uma herbácea anual, perene, que atinge entre 30 e 40 centímetros de altura. ^{1,2}

Os principais constituintes químicos do jambu são fitoesteróis e triterpenos, isobutilamidas, ácidos e álcoois graxos. Mas a classe de composto bioativo mais abundante na planta e a mais estudada, devido sua ação anestésica e anti-inflamatória local, é o espilantol, que é um composto de isobutilamida.² Embora as alquilamidas sejam a classe mais associada ao tratamento de dor e ao uso como anestésico, a literatura já demonstrou o potencial medicinal dos flavonoides, terpenos, alcaloides, cumarina e fenóis.⁴

Os efeitos antinociceptivos, anestésicos e anti-inflamatórios da *Acmella oleracea* permitem o seu uso para as mais diversas funções medicinais, como alívio de dor de dente, tratamento de abscessos ou feridas na boca, alívio de dores reumáticas, dor de garganta, como antisséptico, antifúngico, principalmente envolvendo doenças de pele, no tratamento de anemia, dispepsia, tratamento de malária e tuberculose. Além disso, a decocção de folhas do jambu também é associada a ação diurética. No que se refere a medicina estética, há pedido de patente para o uso da *Acmella oleracea* com objetivo de atividade semelhante ao botox, devido a sua capacidade de inibir a contração dos músculos subcutâneos. ^{1,2}

Os efeitos antinociceptivos foram relacionados a diferentes processos, incluindo a inibição da síntese das prostaglandinas, ativação opioidérgica, serotoninérgica e gabaminérgica e atividade anestésica através do bloqueio da voltagem dos canais de sódio dependente, ou seja, através da manutenção da membrana celular polarizada. Sabendo-se que o uso medicinal do agrião-do-norte tem como base fundamental os efeitos analgésico, anti-inflamatório e anestésico, vale ressaltar que nesse trabalho o foco será discutir e aprofundar acerca das propriedades anestésicas.⁴

A anestesia consiste em um procedimento médico cujo objetivo é bloquear, temporariamente, a capacidade do cérebro em reconhecer um estímulo doloroso, seja em uma operação, em um exame diagnóstico ou em quaisquer procedimentos que possam vir a gerar sensação dolorosa. Os anestésicos podem ser locais e gerais injetáveis e/ou inalatórios ou tópicos e a anestesia pode ser geral ou parcial/regional.^{7,8} O efeito anestésico associado ao

jambu foi descrito, predominantemente através do seu uso tópico, e o composto responsável, o espilantol.²

É importante destacar que pesquisas mostraram o rápido efeito analgésico das alquilamidas presentes no jambu quando comparado a anestésicos padrões como xilocaína (lidocaína), nupercaína e cocaína. A analgesia foi atribuída ao aumento da liberação do ácido gama aminobutírico no córtex temporal cerebral. Vale ressaltar ainda que, tanto efeitos analgésicos centrais quanto efeitos periféricos foram identificados em ensaios onde observou-se a latência do reflexo de retirada da cauda dos ratos diante de estímulos térmicos dolorosos.^{4,5}

Por fim, esse trabalho teve como objetivo encontrar alvos moleculares que expliquem o efeito dos marcadores químicos presentes na espécie *Acmella oleracea* quanto a atividade anestésica. Além disso, foi realizada uma triagem dos componentes dessa espécie, para identificar os prováveis responsáveis pelos efeitos anestésicos da espécie vegetal.

2. MÉTODOS

Inicialmente, 38 moléculas de substâncias da *Acmella oleracea* foram selecionadas com base em bibliografia já publicada. A codificação das moléculas foi reunida no site PubChem para análises subsequentes. A predição de bioatividade das moléculas foi realizada usando a plataforma PASS Online, selecionando aquelas com índices de $P_a > 0,7$ e $P_i < 0,05$, onde P_a indica a probabilidade de uma substância exibir uma atividade biológica específica e P_i a chance da previsão ser imprecisa. Restaram 33 substâncias, triadas novamente por atividades biológicas relacionadas ao objetivo do estudo. A plataforma SwissADME foi utilizada para analisar permeabilidade à barreira hematoencefálica, absorção gastrintestinal e toxicidade.

Para verificar o *docking* molecular, os alvos foram pesquisados utilizando o SuperPred Webserver. Alvos relacionados com a atividade biológica investigada foram obtidos no banco de dados Protein Data Bank (PDB). Os compostos com maior potencial para a atividade central foram selecionados para simulações de docagem molecular, onde apenas o ácido caféico foi promissor. O visualizador Hermes GOLD Suite 5.7.0 preparou os receptores para o acoplamento, usando valores padrão para outros parâmetros e submetendo os complexos a corridas de algoritmos genéticos com a função de adequação CHEMPLP. A validação dos parâmetros do modelo foi feita através de *redocking* usando o complexo ligante-proteína cristalizada, e essas condições foram utilizadas para o *docking* com o melhor ligante da espécie *Acmella oleracea*.

3. RESULTADOS

Entre as 33 substâncias presentes na espécie *Acmella oleracea* que foram triadas a partir da análise de suas atividades biológicas 4 foram selecionadas para serem avaliadas quanto a permeabilidade passiva à barreira hematoencefálica, absorção gastrointestinal, toxicidade e classificação druglikeness. As substâncias analisadas foram ácido caféico, rutina, miquelianina e óxido de cariofileno e entre elas o principal metabólito secundário presente na espécie *Acmella oleracea* que pôde ser associado a uma possível atividade anestésica da espécie vegetal foi o ácido caféico (Figura 1).

Esse composto foi submetido à uma predição molecular farmacocinética e biológica, onde se constatou a possibilidade de a molécula se ligar ao receptor GABA, alvo frequente de anestésicos por atuar reduzindo a excitação neuronal.⁸

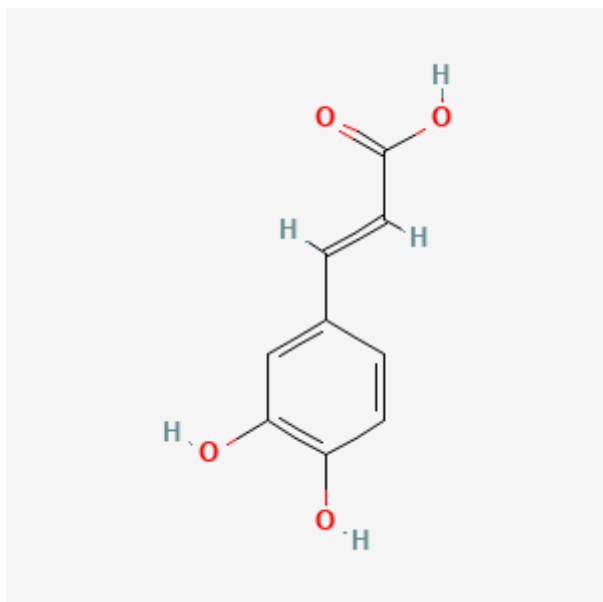


Figura 1. Estrutura plana da molécula de ácido cafeico. Fonte: Pubchem

Avaliamos através do programa SwissADME que não há permeabilidade do ácido cafeico à barreira hematoencefálica, o que, no entanto, não descarta a possibilidade do seu transporte para o sistema nervoso central, visto que, além de o programa avaliar apenas o transporte passivo, se trata de uma molécula pequena que pode ser transportada via transporte ativo. Além disso, pôde-se constatar que a molécula é Druglike e que, portanto, apresenta a capacidade de apresentar comportamento semelhante à fármacos empregados por via oral, embora essa via de aplicação não seja o foco desse trabalho.

Na pesquisa de alvos para a realização do *redocking* molecular utilizando o SuperPred Webserver foi verificado o alvo do composto e sua estrutura cristalografadas no PDB (Protein Data Bank).⁸ O PDB ID 6D6T complexado com o flumazenil foi o utilizado para a realização

do estudo de ancoragem molecular com o ligante selecionado. A resolução do receptor GABA foi de 3.86 Å e o método utilizado para elucidação estrutural foi microscopia eletrônica. A função de score utilizada para identificar o sítio real ou o mais próximo do real no *redocking* foi a CHEMPLP.

Após a definição dos parâmetros do modelo a ser empregado para o *redocking*, foram realizadas simulações com o flumazenil, sobre o sítio ativo do alvo 6D6T. O programa identificou sete poses com valores de RMSD igual a 1.5Å. Realizou-se também o *docking* (tabela 2) para a validação dos parâmetros do modelo, utilizando o ligante cristalografado GABA e como sítio de ligação a estrutura 6D6T a fim de demonstrar a ocorrência da ligação do ácido cafeico no mesmo sítio ativo do flumazenil.

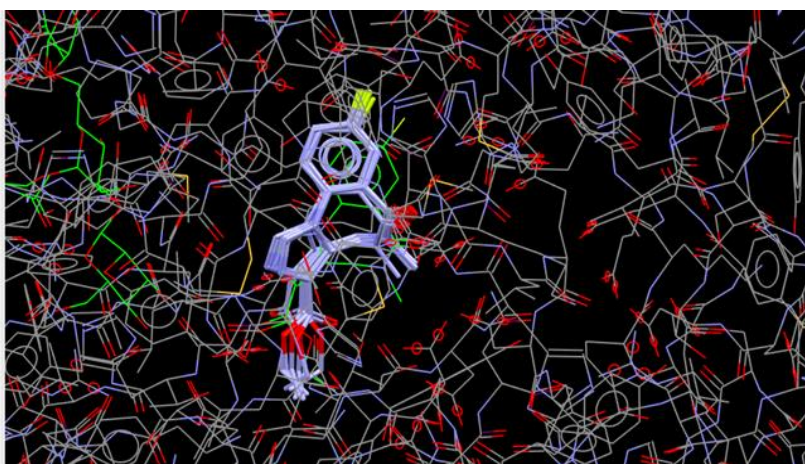


Figura 2. Redocking do flumazenil no receptor GABA (os valores de RMSD das 7 poses geradas foram próximas 1.5Å.)

O *docking* revela as principais interações do ácido cafeico com o receptor GABA. A figura 3 revela uma interação intermolecular de maior intensidade (ligação de hidrogênio) entre ácido cafeico e o aminoácido asparagina 80, responsável por reter a molécula no sítio ativo. Outra ligação, provavelmente responsável pela estabilização do ligante no sítio ativo, corresponde a interação do tipo carbono-hidrogênio com o aminoácido histidina 119. A conformação tridimensional da interação ácido cafeico com o receptor GABA está representada na Figura 4.

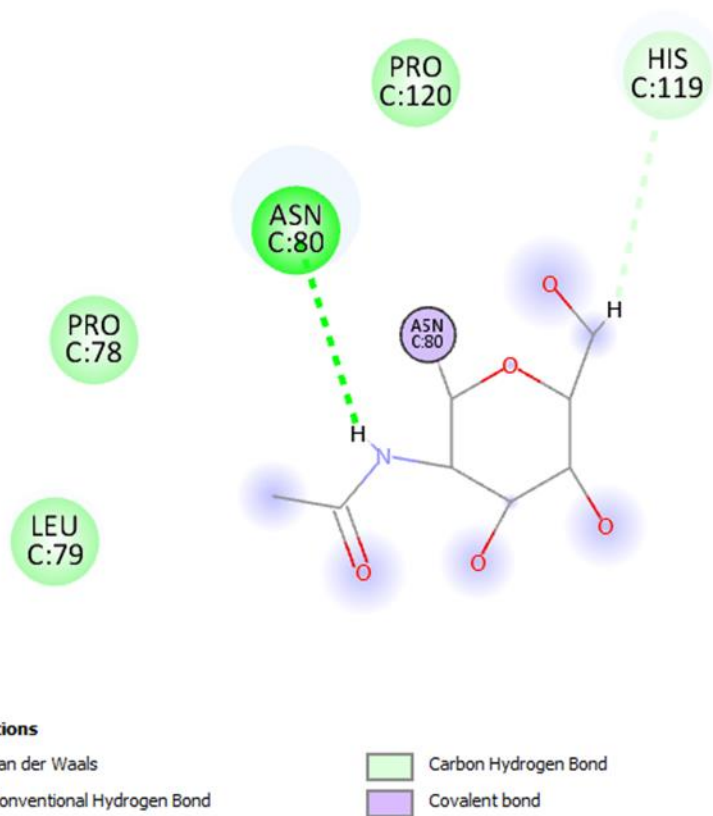


Figura 3. Ancoragem do ácido cafeico dentro do sítio do receptor agonista GABA. Figura gerada com o software Discovery Studio 3.5 Visualizer.

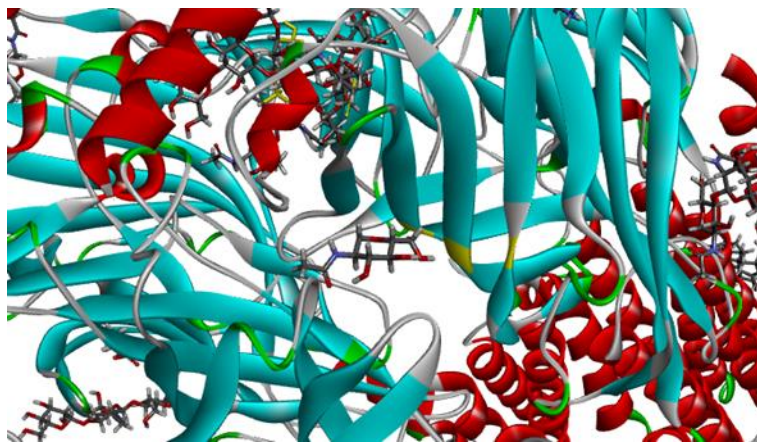


Figura 4: Diagrama 2D de interação do ácido cafeico no receptor agonista GABA. Essa figura foi gerada com o software Pymol 1.1r1 software.

4. DISCUSSÃO

O levantamento de metabólitos ativos da *Acmella oleracea*, com suas respectivas propriedades físico-químicas, classificação *druglikeness*, predição de toxicidade, predição de

possível ação no sistema nervoso central permitiu a escolha do ácido caféico como molécula para realização do docking molecular, apresentando melhor desempenho em todas essas análises, com maior potencial de interação com o GABA, receptor modulado positivamente pela maioria dos anestésicos e benzodiazepínicos clássicos para diminuir a atividade neuronal do cérebro.¹³

Entre os diversos compostos que passaram pela triagem desse estudo o ácido caféico foi elencado como molécula alvo devido a possibilidade de ser transportado para o sistema nervoso central, visto que se trata de uma molécula pequena que pode ser transportada ativamente. Além disso, é uma molécula que pode ser classificada como droga segundo Lipinski 1997. Tal classificação é utilizada para determinar propriedades moleculares que são importantes para a predição farmacocinética das substâncias *in vivo*. De acordo com Lipinski, uma molécula é mais provável de possuir propriedades favoráveis se o peso molecular for abaixo de 500 dáltons, o coeficiente de partição octanol/água (log P) é inferior 5, se não há mais que 5 doadores de ligação de hidrogênio (grupos OH e NH) e se não existem 10 aceptores de ligação de hidrogênio (nomeadamente N and O)¹⁹. O ácido caféico cumpre todos esses critérios.

O ácido caféico se comportou neste estudo *in silico*, como um ligante na estrutura do receptor GABA permitindo a inferência de possível ação central desse receptor, de forma semelhante ao que foi demonstrado no redocking do flumazenil, substância com ação antagonista a benzodiazepínicos, que se ligou a mesma estrutura do receptor GABA.

A ancoragem do ácido caféico dentro do sítio do receptor agonista GABA se deu através de ligações de hidrogênio e carbônio-hidrogênio com os aminoácidos asparagina 80 e histidina 119, respectivamente. Essas interações reforçam o potencial anestésico do ácido caféico, visto que estudos evidenciam que substâncias como Etomidato, que é um hipnótico intravenoso de ação curta, indicado para indução da anestesia geral, estabelece interação eletrostática com asparagina ao interagir com o receptor GABA, e o benzodiazepínico Diazepam interage com os resíduos conservados de fenilalanina e prolina. Vale ressaltar que, embora na ancoragem do ácido caféico dentro do sítio do receptor agonista GABA, não haja uma ligação direta com a prolina, ela contribui para estabilidade molecular, visto que se encontra no mesmo campo de força da molécula. ¹³

Além da possibilidade de efeito anestésico, explorada nesse trabalho, o grupo dos polifenóis, ao qual pertence o ácido caféico, tem sido explorado amplamente em seus aspectos

farmacológicos por apresentar grande potencial antitumoral de atividade mitocondrial^{9,10}. Também tem sido alvo de estudos *in vivo* para avaliar propriedades antiinflamatórias¹¹. Além disso, já possui base-teórico prática extensa que demonstra atividade anestésica tópica e antisséptica¹².

Por fim, a espécie *Acmella oleracea*, mais conhecido como Jambu, tem sido utilizada de maneira crescente no Brasil com a finalidades diversas, desde culinária até farmacológica. Isso reforça a necessidade de mais estudos a respeito de todo potencial que pode ser encontrado em elementos de abundância na flora brasileira, especificamente da *Acmella oleracea* que vem sendo estudada em diversas frentes. Seu estudo *in silico*, abordado neste trabalho, elencou o ácido caféico como como composto de promissor atividade anestésica central (diferente do principal composto responsável pela anestesia tópica, o espilanto¹¹). A molécula foi selecionada para a realização de *docking* molecular pois apresentou maior predição de interação com o receptor GABA se ancorando no sítio ativo desse receptor, e foi considerada pelas análises farmacológicas computacionais descritas neste artigo, como um agonista desse receptor, apresentando, portanto, uma possível atividade gabaérgica anestésica, a despeito de suas atividades já anteriormente constatadas.

Dessa forma, o presente artigo, ao se utilizar de técnicas *in silico* com a *Acmella oleracea*, levantou dados importantes para o planejamento futuro de um possível fármaco que utilize essa espécie vegetal como base, além de abrir caminho para o desenvolvimento de fitoterápicos anestésicos tendo o ácido caféico como molécula principal. Logo, é imprescindível que ocorra a realização de novos trabalhos desenvolvidos *in vitro* e *in vivo* para aprofundar o estudo do Jambu como um fármaco anestésico central.

5. CONCLUSÃO

Este estudo *in silico* forneceu insights valiosos sobre o potencial do ácido caféico, um metabólito ativo da *Acmella oleracea*, como um possível agente anestésico central. O ácido caféico não apenas atende aos critérios de druglikeness de Lipinski, mas também demonstra uma interação promissora com o receptor GABA, semelhante à conhecida substância antagonista flumazenil. As ligações específicas de hidrogênio e carbônio-hidrogênio com aminoácidos chave reforçam a hipótese de sua eficácia anestésica. Além disso, a diversidade farmacológica do ácido caféico é evidenciada por suas conhecidas propriedades anestésica tópica e antiinflamatória. O uso crescente da *Acmella oleracea* no Brasil em aplicações culinárias e farmacológicas sublinha a importância de explorar mais profundamente seus

compostos bioativos. Tem-se então, um ponto de partida crucial para futuras investigações *in vitro* e *in vivo*. É imperativo validar as previsões computacionais alcançadas com esse estudo, através de experimentos práticos para confirmar a eficácia do ácido caféico como um anestésico central potencial e explorar outras propriedades farmacológicas benéficas oferecidas pela *Acmella oleracea*. A riqueza da flora brasileira, representada aqui pelo Jambu, é um campo fértil para a descoberta de novos compostos com potencial farmacológico, e este estudo destaca a importância de explorar esses recursos de forma sustentável e inovadora.

6. REFERÊNCIAS:

1. GILBERT, B., ALVES, L. F., and FAVORETO, R. F. *Acmella oleracea*. In: Monografias de Plantas Medicinais Brasileiras e Aclimatadas: Volume II [online]. Rio de Janeiro: Abifisa; Editora FIOCRUZ, 2022, pp. 17-36. ISBN: 978-65-5708-177-8. <https://doi.org/10.7476/9786557081778.0003>.
2. *Acmella oleracea*, planta medicinal usada como alívio da dor: análise colorimétrica dos metabólitos secundários: Brazilian Journal of Development, Curitiba, v.7, n.10, p. 101171-101183 oct. 2021
3. MARIANGELA RONDANELLI; FEDERICA FOSSARI; VECCHIO, Viviana; *et al.* *Acmella oleracea* for pain management. v. 140, p. 104419–104419, 2020. Disponível em:

- <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0367326X19317149>>. Acesso em: 15 maio 2023.
4. JORGE LUIZ DALLAZEN; BARBOSA, Bruna; MARIA-FERREIRA, Daniele; *et al.* Local effects of natural alkylamides from *Acmella oleracea* and synthetic isobutylalkyl amide on neuropathic and postoperative pain models in mice. v. 160, p. 105224–105224, 2022. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0367326X22001022>>. Acesso em: 15 maio 2023.
 5. **Planta eclética**. Fapesp.br. Disponível em:<<https://revistapesquisa.fapesp.br/planta-eclética/>>. Acesso em: 15 maio 2023.
 6. **Anestesiologia – Hospital de Clínicas – UNICAMP**. Unicamp.br. Disponível em: <<https://hc.unicamp.br/especialidades/anestesiologia/>>. Acesso em: 15 maio 2023.
 7. OMS. **Anestesia tem risco? | Biblioteca Virtual em Saúde MS**. Saude.gov.br. Disponível em: <<https://bvsms.saude.gov.br/anestesia-tem-risco/#:~:text=Anestesia%20%C3%A9%20o%20estado%20de,regi%C3%A3o%20do%20corpo%20%C3%A9%20anestesiada.>>. Acesso em: 15 maio 2023.
 8. RODRIGUES NUNES, Rogean; FERNANDES, Gastão; NETO, Duval; *et al.* REVISTA BRASILEIRA DE ANESTESIOLOGIA Anestésicos, Precondicionamento e Proteção Cerebral. **Rev Bras Anesthesiol**, v. 63, n. 1, p. 119–138, 2013. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/rba/a/6TqbR9D64MWHbtvJDKMNLzz/?format=pdf>>.
 9. MIRZAEI, Sepideh; GHOLAMI, Mohammad Hossein; ZABOLIAN, Amirhossein; *et al.* **Caffeic acid and its derivatives as potential modulators of oncogenic molecular pathways: New hope in the fight against cancer**. *Pharmacological Research*, v. 171, p. 105759, 2021.
 10. BASTIDAS, Haydeé; ARAYA-VALDÉS, Gabriel; CORTÉS, Gonzalo; *et al.* **Pharmacological Effects of Caffeic Acid and Its Derivatives in Cancer: New Targeted Compounds for the Mitochondria**. *Advances in experimental medicine and biology*, p. 213–225, 2022.
 11. PACIELLO, Fabiola; DI PINO, Antonella; ROLESI, Rolando; *et al.* **Anti-oxidant and anti-inflammatory effects of caffeic acid: *in vivo* evidences in a model of noise-induced hearing loss**. *Food and Chemical Toxicology*, v. 143, p. 111555, 2020.
 12. SILVA; DO, Raquel ; TEIXEIRA, Wiviane. **O USO DO JAMBU (ACMELLA OLERACEA) COMO ANESTÉSICO E ANTISSEPTICO EM PROCEDIMENTOS DE VENOPUNÇÃO**. Instituto Scientia eBooks, p. 251–253, 2023.
 13. JEONG JOO KIM; ANANT GHARPURE; TENG, Jinfeng; *et al.* **Shared structural mechanisms of general anaesthetics and benzodiazepines**. *Nature*, v. 585, n. 7824, p. 303–308, 2020. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7486282/>>. Acesso em: 14 maio 2024.

