

Análise *in silico* da toxicidade do monoterpeno eucaliptol

Evaluation *in silico* of eucaliptol monoterpene toxicity

Análisis *en silico* de la toxicidade de monoterpeno ecucalipitol

Recebido: 19/03/2020 | Revisado: 20/03/2020 | Aceito: 01/04/2020 | Publicado: 01/04/2020

Lucas Linhares Gomes

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6626-4824>

Universidade Federal de Campina Grande, Brasil

E-mail: lucaslinharesg@hotmail.com

Antônio Pereira de Araújo Neto

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8287-3491>

Universidade Federal de Campina Grande, Brasil

E-mail: an_tonioneto@outlook.com

Fabiana Larissa Santos de Medeiros

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3804-600X>

Universidade Federal de Campina Grande, Brasil

E-mail: fabiana.serido@hotmail.com

Maria Tays Pereira Santana

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6503-7117>

Universidade Federal de Campina Grande, Brasil

E-mail: taayssantana@gmail.com

Thallita Alves dos Santos

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7100-5023>

Universidade Federal de Campina Grande, Brasil

E-mail: thallita_28@hotmail.com

Heloisa Mara Batista Fernandes de Oliveira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8237-9920>

Hospital Universitário Ana Bezerra (UFRN), Brasil

E-mail: Heloisambf@gmail.com

Gymenna Maria Tenório Guênes

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5447-0193>

Universidade Federal de Campina Grande, Brasil

E-mail: gymennat@yahoo.com.br

Maria Angélica Sátyro Gomes Alves

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3329-8360>

Universidade Federal de Campina Grande, Brasil

E-mail: angelicasatyro@hotmail.com

Elizandra Silva da Cunha

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6264-5232>

Universidade Federal de Campina Grande, Brasil

E-mail: elizandrapenha@hotmail.com

Raline Mendonça dos Anjos

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0751-7523>

Universidade Federal de Campina Grande, Brasil

E-mail: raline.anjos@gmail.com

Vinícius Filgueiras de Oliveira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2584-3624>

Universidade Federal da Paraíba, Brasil

E-mail: filgueirasv@gmail.com

Aleson Pereira de Sousa

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3430-477X>

Universidade Federal da Paraíba, Brasil

E-mail: aleson_155@hotmail.com

Abrahão Alves de Oliveira Filho

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7466-9933>

Universidade Federal de Campina Grande, Brasil

E-mail: abrahao.farm@gmail.com

Resumo

Os estudos recentes relacionados aos produtos naturais têm demonstrado maior interesse em analisar o seu perfil toxicológico, uma vez que há exigências para regulamentação de níveis seguros que promovam melhor eficiência do potencial farmacológico destes medicamentos de origem natural. O presente estudo busca analisar através de ensaios *in silico* a toxicidade do monoterpene eucaliptol. Para isso, foi utilizado a ferramenta admetSAR®, um banco de dados online e gratuito, disponível no site <http://lmmd.ecust.edu.cn/admetSar1/>, e com esse sistema foi possível observar os dados de toxicidade como: toxicidade de AMES, o perfil de carcinogenicidade, a carcinogênese e toxicidade oral aguda. A partir da análise *in silico*, o

eucaliptol não apresentou toxicidade de AMES ou grau de carcinogenicidade, o perfil carcinogênico foi considerado baixo e sua toxicidade oral aguda classificada como grau III, considerado moderado. A pesquisa aponta para uma baixa toxicidade do monoterpene eucaliptol, seus dados de análise *in silico* sugerem que a substância é um bom candidato ao desenvolvimento de alternativas terapêuticas, entretanto para uma melhor compreensão do perfil de toxicológico da substância deve ser realizados estudos *in vitro* e *in vivo*.

Palavras-chave: Eucalipto, Terpeno, Fitoterapia.

Abstract

Recent studies related to natural products have shown greater interest in analyzing their toxicological profile, since there are requirements for regulation of safe levels that promote better efficiency of the pharmacological potential of these medicines of natural origin. The present study seeks to analyze through *in silico* tests the toxicity of eucalyptol monoterpene. For this, the admetSAR® tool was used, a free online database, available at <http://lmmd.ecust.edu.cn/admetSar1/>, and with this system it was possible to observe toxicity data such as: toxicity AMES, carcinogenicity profile, carcinogenesis and acute oral toxicity. From the *in silico* analysis, eucalyptol did not show AMES toxicity or degree of carcinogenicity, the carcinogenic profile was considered low and its acute oral toxicity classified as grade III, considered moderate. The research points to a low toxicity of the eucalyptol monoterpene, its silica analysis data suggest that the substance is a good candidate for the development of therapeutic alternatives, however, for a better understanding of the substance's toxicological profile, *in vitro* and *in vivo* studies should be performed. alive.

Keywords: Eucalyptus, Terpene, Phytoterapy.

Resumen

Estudios recientes relacionados con productos naturales han mostrado un mayor interés en analizar su perfil toxicológico, ya que existen requisitos para la regulación de niveles seguros que promuevan una mejor eficiencia del potencial farmacológico de estos medicamentos de origen natural. El presente estudio busca analizar mediante pruebas *in silico* la toxicidad del monoterpene de eucaliptol. Para esto, se utilizó la herramienta admetSAR®, una base de datos gratuita en línea, disponible en <http://lmmd.ecust.edu.cn/admetSar1/>, y con este sistema fue posible observar datos de toxicidad como: toxicidad AMES, perfil de carcinogenicidad, carcinogénesis y toxicidad oral aguda. A partir del análisis *in silico*, el eucaliptol no mostró toxicidad AMES o grado de carcinogenicidad, el perfil carcinogênico se consideró bajo y su

toxicidad oral aguda clasificada como grado III, se consideró moderada. La investigación apunta a una baja toxicidad del monoterpeno de eucaliptol, sus datos de análisis de sílice sugieren que la sustancia es un buen candidato para el desarrollo de alternativas terapéuticas, sin embargo, para una mejor comprensión del perfil toxicológico de la sustancia, se deben realizar estudios *in vitro* e *in vivo*.

Palabras clave: Eucalipto, Terpeno, Fitoterapia.

1. Introdução

Os recursos naturais sempre foram explorados pela humanidade para benefício das populações, alimentação, higienização e cuidados com a saúde. Os conhecimentos populares sobre espécies vegetais e suas propriedades biológicas passam por gerações, ganhando relatos e experiência esses produtos naturais são bons alvos de pesquisa para descoberta de novos fármacos de interesse na saúde humana (Dias et al., 2017; Simonetti et al., 2016).

O custo dos medicamentos industrializados, as dificuldades da população em receber assistência médica e a tendência de uso de produtos de origem natural têm contribuído para o aumento da utilização das plantas como recurso medicinal (Rossato et al., 2012).

Os fitoterápicos são medicamentos produzidos a partir de matéria-prima vegetal, com propriedades profiláticas e/ou curativas, e necessitam assegurar qualidade, eficácia clínica e segurança para uso e comercialização, comprovados por meio de levantamentos farmacológicos e ensaios clínicos (Rodrigues, 2016).

A eficiência terapêutica das plantas depende dos componentes químicos presentes em sua constituição: raízes, caule, folhas e frutos. Os produtos oriundos deste material vegetal, como por exemplo, os óleos essenciais que são ricos em substâncias do metabolismo secundário das plantas, como: flavonóides, taninos e terpenos (Bonifácio et al., 2014).

O constituinte terpenóide primário no óleo essencial de eucalipto (EOE) é o eucaliptol (1,8-cineol ou cineol), que foi estudado em contextos pré-clínicos e clínicos. O eucaliptol apresenta várias atividades farmacológicas que podem proporcionar efeitos terapêuticos em condições respiratórias, como efeitos anti-inflamatórios e broncodilatadores. Vários ensaios clínicos foram realizados em pessoas afetadas com doenças respiratórias, como rinossinite, bronquite, asma e distúrbio pulmonar obstrutivo crônico (DPOC), obtendo resultados positivos (Galan et al., 2020).

No entanto, antes de serem usadas para fins terapêuticos, as substâncias precisam passar por testes de toxicidade. Há uma grande importância na avaliação da ação biológica em

estudos de triagem de produtos naturais, assim os ensaios toxicológicos acrescentam informações para garantir a devida segurança na aplicação dos mesmos. Os experimentos toxicológicos têm por objetivo elucidar os limites de concentração de drogas/fármacos na ingestão destas substâncias e os possíveis efeitos colaterais que podem aparecer no homem após sua administração (Moura et al., 2012).

Desta forma, com base nas informações sobre o potencial terapêutico do monoterpeno eucaliptol (1,8-cineol) e sua importância, esse trabalho busca analisar a toxicidade *in silico* do monoterpeno eucaliptol, presente em plantas medicinais testadas na literatura e amplamente utilizadas na medicina popular.

2. Metodologia

Este estudo trata-se de uma pesquisa aplicada, experimental e quantitativa. Segundo Günther (2006) a pesquisa quantitativa faz a utilização de dados coletados por meio do uso de medições de valores, se realiza a mensuração através de números com suas respectivas unidades. Assim sendo, há necessidade da aplicação desse método para verificação dos resultados obtidos a partir dos objetivos propostos no estudo.

Ensaio *in vitro*

2.1 Substância Teste

Inicialmente, todas as informações químicas do composto foram obtidas no site gratuito Pubchem® (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>).

2.2 Teste Toxicológico *in silico*

Na avaliação da toxicidade foi realizado um estudo *in silico* usando o software gratuito AdmetSAR®. Podendo o mesmo ser acessado pelo endereço: (<http://Immed.ecust.edu.cn/admetSar1/>). Na análise foi feito a observação de quatro parâmetros: Potencial Mutagênico AMES, Toxicidade Oral Aguda (TOA), Potencial Carcinogênico (PC) e Carcinogenicidade (Car) (Souza, 2015).

2.3 AdmetSAR®

O AdmetSAR® é um banco de dados aberto, com sistema de pesquisa de texto e estrutura molecular, continuamente atualizado que coleta, organiza e gerencia dados de propriedades associados à absorção, distribuição, metabolização, excreção e toxicidade (ADMET) disponíveis na literatura publicada. Em AdmetSAR® mais de 210.000 dados anotados sobre ADMET para mais de 96.000 compostos exclusivos com 45 tipos de propriedades associadas à ADMET. O banco de dados fornece uma interface simples para consultar um perfil químico específico, usando o número de registro no Chemical Abstract Service - CAS, o nome comum ou a similaridade de estrutura (CHENG et al., 2012).

3. Resultados e Discussão

3.1 Testes de toxicidade *in silico*

Na análise de toxicidade da substância Ascaridol a partir do software AdmetSAR® mostrou não ser mutagênico de acordo com o Teste AMES apresentando um valor de 0,8239, quanto ao potencial carcinogênico (PC) a substância se apresentou como sendo não carcinógeno com um valor de 0,7543.

Quanto ao parâmetro de Toxicidade Oral Aguda (TOA) o composto foi classificado na categoria III com um valor de 0,7463, o que mostra que o mesmo necessita de uma DL50 (Dose letal mediana) com valores que seja superior a 500 mg\Kg e inferior a 5000 mg\Kg para que assim seja capaz de causar alterações no organismo.

E ao analisar a Carcinogenicidade (Car), verificou ser um parâmetro irrelevante de acordo com o valor encontrado que foi de 0,5550, assim como pode ser visto na Tabela 1.

Tabela 1: Toxicidade *in silico* do Ascaridol

TESTE	RESULTADO	PROBABILIDADE
AMES	Não Mutagênico	0,8239
PC	Não carcinógeno	0,7543
TOA	Classificação III Segundo a Agência de proteção Ambiental Americana (USEPA)	0,7463
Car	-	0,5550

- (Não relevante).

Fonte: Autor próprio, 2020

As plantas são fonte significativa de novas substâncias químicas que apresentam algum potencial efeito terapêutico (Alvarenga, Freitas & Medeiros, 2015). Segundo Bernardi et al., (2011) há uma grande repercussão na saúde pública, onde a fitoterapia torna-se uma área que vem crescendo e se desenvolvendo. Uma das justificativas para esse desenvolvimento é que mais pessoas buscam retornar a uma forma mais natural de vida e há uma convicção crescente de que cada produto natural é saudável e seguro. E o que tem colocado esses medicamentos à base de plantas em destaque são os avanços no conhecimento técnico – científico das características de qualidade, segurança e eficácia.

O amplo interesse mundial na busca por insumos e produtos oriundos de espécies vegetais coloca em posição relevante a região Amazônica, porém existem outros biomas brasileiros como o do cerrado e caatinga apresentam exemplares com possível potencial medicinal (Guarim & Morais, 2003).

As espécies vegetais da caatinga são caracterizadas por formações xerófilas, muito heterogêneas por razões climáticas, edáficas, topográficas e antrópicas (Alves, 2009). A biota da mesma é rica em espécies endêmicas sendo tão diversificadas como qualquer outro bioma no mundo, e está exposto às mesmas condições de clima e de solo (Ministério do Meio Ambiente, 2019).

De acordo com Macdonald et al. (2004) e Silva (2012) a atividade anti-helmíntica do mentruz (*Chenopodium ambrosioides*) tem sido atribuída ao ascaridol, constituinte maior predominância do óleo essencial.

Alguns estudos também mostraram que esta espécie possui inúmeras atividades, tais como: anti *Trypanossoma cruzi* (Uchiyama, 2009), antineoplásica (Nascimento et al., 2006), antibacteriana (Souza et al., 2012). atividade fungicida (Jardim et al., 2010).

Segundo Kaziyama et al., (2012), em meio aos extratos analisados, o extrato aquoso de *Peumus boldus* (conhecido com boldo) mostrou atividade antiviral contra o herpesvírus suíno (SuHV-1), representando uma porcentagem de inibição de 98% e contra o herpesvírus bovino (BoHV-1) com uma porcentagem de inibição de 99%.

Da mesma forma que os medicamentos sintéticos, os fitoterápicos são definidos pelo conhecimento da eficácia, riscos de seu uso, reprodutibilidade efeitos farmacológicos, constância de sua qualidade, benefícios e segurança, sua validade quanto ao uso são demonstradas através de levantamentos etnofarmacológicos, de utilização, documentações científicas, publicações indexadas, estudos pré-clínicos e clínicos, farmacológicos e toxicológicos (Brasil, 2015).

O uso inadequado e por um longo período de tempo tem como consequência o surgimento de uma série de efeitos colaterais, como reações alérgicas, efeitos tóxicos a vários órgãos, principalmente ao fígado como a cirrose, insuficiência pulmonar e efeitos carcinogênicos, dessa forma ao se utilizar plantas medicinais deve haver precaução em relação à dosagem e ao tipo de plantas que serão usadas (Lorenzi & Matos, 2002).

Dessa forma é de grande importância à análise da ação biológica na triagem de estudo de um vegetal, assim como os ensaios toxicológicos, que agregam informações para garantir uma aplicação segura quanto ao seu uso, os experimentos toxicológicos objetivam pré-dizer os níveis de ingestão das substâncias e os possíveis efeitos colaterais, que podem aparecer no homem após sua administração (Moura et al., 2012).

A busca por uma análise rápida, com baixo custo e segura faz com que os estudos de toxicologia computacional tenham uma importante aplicabilidade. Essa análise é feita a partir de software que realiza a predição dos efeitos adversos, assim como de seu mecanismo para que assim possa conhecer os danos que uma substância causa danos para o organismo. Nessa área de conhecimento a avaliação da toxicidade é feita por meio dos avanços da informática, estatística, química computacional, bioestatística, biologia e toxicologia (IUPAC, 2007; USEPA, 2003, 2009, 2010).

Dentre os softwares existentes se destaca o AdmetSAR® o qual analisa os fragmentos moleculares pré – computadorizado, originando alertas de toxicidade, encontrada na estrutura molecular analisada (Urso ,2010; Urso,2011).

No presente estudo, de acordo com a análise do software admetSAR o ascaridol, se mostrou como uma substância não mutagênica de acordo com o teste AMES, não carcinógeno de acordo com o potencial de carcinogenicidade (PC) e quanto a Toxicidade Oral Aguda (TOA) o composto foi classificado na categoria III com um valor de 0,7463, o que mostra que o mesmo necessita de uma DL50 com valores que seja superior a 500mg\Kg e inferior a 5000mg\Kg.

Segundo a agência de Proteção Ambiental americana (USEPA, 2018), esse parâmetro é classificado em quatro categorias, a categoria I compreende os compostos que apresentam uma DL50 inferior ou igual a 50mg\Kg, a II inclui os compostos com DL50 superior a 50mg\Kg e inferior a 500mg\Kg, a categoria III são aqueles compostos com DL50 superior a 500mg\Kg e inferior a 5000mg\Kg e a categoria IV são os compostos com DL50 superior a 5000mg\Kg. Logo, o eucaliptol torna-se uma molécula alvo para estudos de potencial biológico onde possui baixa toxicidade e um bom limite de utilização na concentração 500mg/Kg.

4.Considerações finais

O presente estudo revela através da análise *in silico* baixo potencial toxicológico para o Eucaliptol, onde a molécula não apresentou potencial mutagênico e carcinogênico, dados de acordo com USEPA a TOA foi classificada como moderada, tornando assim a substância viável para o uso terapêutico, de forma mais eficaz e segura diante dos efeitos colaterais no organismo.

Entretanto, vale ressaltar a importância de maiores detalhes do perfil de toxicidade da molécula deva ser feito através de mais estudos *in vitro* e *in vivo*. Onde pode ser elucidado maiores detalhes do mecanismo de interação da molécula em ambiente biológicos, revelando o potencial biológico do Eucaliptol.

Referências

Afonso, L. F. (2008) Modelagem Molecular e Avaliação da Relação Estrutura-Atividade Acoplados a Estudos Farmacocinéticos e Toxicológicos *in silico* de Derivados Heterocíclicos com Atividade Antimicrobiana. [Dissertação de mestrado]. Rio de Janeiro: Universidade Federal do Rio de Janeiro.

Bonifácio, B. V., Silva, P. B., Ramos, M. A. S., Negri, K. M. S., Bauab, T. M., Chorilli, M. (2014). Nanotechnology-based drug delivery systems and herbal medicines: a review. *International journal of nanomedicine*.9(1), 1-15.

Cheng F., Li, W., Zhou, Y., Shen, J., Wu, Z., Liu, G., Lee, P. W., Tang, Y. (2012). admetSAR: a comprehensive source and free tool for assessment of chemical ADMET properties. *J. Chem. Inf. Mode*. 52(1), 3099-3105.

Cidres, E. S. S. A. (2018). Óleo essencial das folhas e fruto do eucalipto: avaliação da atividade antimicrobiana e da atividade antioxidante. [Dissertação de mestrado]. Bragança: Escola Superior de Tecnologia e Gestão do Instituto Politécnico de Bragança.

Dias, G. T., Lima, C. M., Lira, A. B., Ramalho, J. A., Oliveira, K. M., Diniz, M. F. (2017). Toxicidade do extrato hidroalcoólico das folhas de *Cissus sicyoides*. *Acta Brasiliensis*. 15(1), 8-12.

Galan. D. M., Ezedu, N. E., Gacia, J., Geronimo, C. A., Berry, N. M., Malcolm, B. J. (2020). Eucalyptol (1, 8-cineole): an underutilized ally in respiratory disorders?. *Journal of Essential Oil Research*. jan: 1-8.

Günther, Hartmut. (2006). Pesquisa qualitativa versus pesquisa quantitativa: esta é uma questão? *Psicologia: Teoria e Pesquisa*, 22 (2), 201-209.

Marzoug, H. N. B., Romdhane, M., Lebrihi, A., Mathieu, F., Couderc, F., Abderraba, M., Khouja M. L., Bouajila, J. (2011). Eucalyptus oleosa essential oils: chemical composition and antimicrobial and antioxidant activities of the oils from different plant parts (stems, leaves, flowers and fruits). *Molecules*. 16(2), 1695-1709.

Moura, N. S., Vasconcelos, A. C. M., Bernabé, B. M., Teixeira, L. J. Q., Saraiva, S. H. (2012). Ensaio toxicológicos: Um estudo sobre a utilização de testes in vivo e in vitro. *Enciclopédia biosfera*. 8(15), 1945-1956.

Oliveira, T. R. (2019). Avaliação da toxicidade "in vivo", atividade antifúngica e efeito anti-proliferativo do óleo essencial de *Melaleuca* spp.(Tea tree, Cajuput e Naiuli) sobre espécies do gênero *Candida*. [Tese de doutorado]. Piracicaba. Universidade Estadual de Campinas.

Pereira, A.S. et al. (2018). *Metodologia da pesquisa científica*. [e-book]. Santa Maria. Ed. UAB/NTE/UFSM. Disponível em:
https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/15824/Lic_Computacao_Metodologia-Pesquisa-Cientifica.pdf?sequence=1. Acesso em: 19 março 2020.

Rodrigues, L. A., Magalhães, L. S., Pussente, C. G., Crespo, J. M. R. S. (2016). Elaboração de um fitoterápico antibiótico a partir da casca de *Anadenanthera macrocarpa*. *Revista científica da Faminas*. 10(3), 23-39.

Rossato, A. E., Pierini, M. D. M., Amaral, P. D. A., Santos, R. R. D., Citadini-Zanette. (2012). Fitoterapia reacional: Aspectos taxonômicos, agroecológicos, etnobotânicos e terapêuticos. 1 ed. Florianópolis: DIOESC.

Simonetti, E., Ethur, M. E., Castro, L. C., Kauffmann, C., Giacomini, A. C., Ledur, A., Arossi, K., Pacheco, L. A., Goettert, M. I., Faleiro, D., Freitas, E. M. (2016). Evaluation of the antimicrobial activity of extracts of *Eugenia anomala* and *Psidium salutare* (Myrtaceae) against the *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes*. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*. 18(1), 9-18.

Souza, J. P. A. (2015) Estudo de ancoragem molecular de derivados de ácido cinâmico frente à enzimas do ciclo replicativo do HIV-1. [monografia] Campo Mourão: Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito

Lucas Linhares Gomes – 10%

Antônio Pereira de Araújo Neto – 7%

Fabiana Larissa Santos de Medeiros – 7%

Maria Tays Pereira Santana – 7%

Thallita Alves dos Santos – 7%

Heloisa Mara Batista Fernandes de Oliveira – 7%

Gymenna Maria Tenório Guênes – 7%

Maria Angélica Sátyro Gomes Alves – 7%

Elizandra Silva da Penha – 7%

Raline Mendonça dos Anjos – 7%

Vinícius Filgueiras de Oliveira – 7%

Aleson Pereira de Sousa – 10%

Abraão Alves de Oliveira Filho – 10%