

## AVALIAÇÃO *IN SILICO* DA ATIVIDADE ANTIPROTOZOÁRIA DO LUPEOL

Bruna de Lima Alves Simão (1); Karla de Lima Alves Simão (1); Camilla Torres Pereira (2);  
Millena de Souza Alves (3); Abrahão Alves de Oliveira Filho (4).

(1) *Graduanda de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG) – Campus Patos/PB, e-mail: brunna\_2012pb@hotmail.com.*

(1) *Graduanda de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG) – Campus Patos/PB, e-mail: karlla\_cb@hotmail.com*

(2) *Graduanda de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG) – Campus Patos/PB, e-mail: camilla.pryncess@gmail.com.*

(3) *Graduanda de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG) – Campus Patos/PB, e-mail: millenaasouzaa@gmail.com.*

(4) *Professor do Curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG) – Campus Patos/PB, e-mail: abraham.farm@gmail.com.*

**Resumo:** Estudos fitoquímicos realizados em frutos comestíveis como azeitona, figo, manga, morango, uvas vermelhas e em plantas medicinais, demonstraram a presença de compostos da classe terpenos, na qual está agrupado o lupeol um metabólito secundário das espécies vegetais, do tipo triterpeno pentacíclico, pertencente à família lupanos. Além do mais, o referido metabólito tem apresentado diversas propriedades farmacológicas e um baixo nível de toxicidade, contudo nesse trabalho será abordado a atividade antiprotozoária. Uma vez que, doenças provocadas por protozoários como *Entamoeba histolytica*, *Trypanosoma cruzi*, *Plasmodium* e *Leishmania sp*, geram graves problemas à saúde pública em escala mundial. Assim fazendo emergir a necessidade de novas alternativas terapêuticas para o tratamento de doenças parasitárias. Tendo esse estudo como objetivo analisar a eficácia do lupeol em relação a atividade antiprotozoária através do teste *in silico*. Para a avaliação, utilizou-se o programa Previsão do Espectro de Atividade para Substâncias (PASS) online, um software projetado para avaliar o potencial biológico geral de uma molécula orgânica *in silico* sobre o organismo humano. Esse fornece previsões simultâneas de muitos tipos de atividades biológicas com base na estrutura do composto orgânico, obtendo o índice PA (probabilidade “de ser ativo”) e PI (probabilidade “de ser inativo”). Portanto, esse trabalho teve como resultado um relevante efeito antiprotozoário da substância lupeol sobre os microorganismos: *Entamoeba histolytica*, *Trypanosoma cruzi*, *Plasmodium* e *Leishmania sp*, comprovado pelo o índice PA ser maior que PI. Sobretudo revelando um grande potencial inibitório na atividade do protozoário *Leishmania*, visto que apresenta um PA de 0, 891 em relação a um PI de 0, 003.

**Palavras-chave:** Terpenóides; lupeol; *in silico*; atividade antiprotozoária.

### INTRODUÇÃO

Os protozoários são organismos unicelulares, eucarióticos e com nutrição heterotrófica. Sendo, na maioria das vezes, aquáticos de vida livre, porém alguns são parasitas e se hospedam dentro de outro organismo, vivendo à custa do seu hospedeiro. Esses microorganismos causam doenças parasitárias que geram graves problemas à saúde pública em escala global, fazendo emergir a necessidade de novas alternativas terapêuticas para o combate desses parasitas (QUINTANILLA, PINTO, 2014).

Além do mais, as doenças parasitárias como: amebíase, tricomoníase, toxoplasmose, leishmaniose, doença de Chagas e malária; causadas respectivamente pelos protozoários, *Entamoeba histolytica*, *Trichomonas vaginalis*, *Toxoplasma gondii*, *Leishmania sp.*, *Trypanosoma cruzi* e *Plasmodium*; possuem grande relevância mundial para a saúde pública (QUINTANILLA, PINTO, 2014). Visto que, essas patologias podem causar graves danos à saúde do organismo parasitado. Bem como, no caso da leishmaniose, doença de Chagas e malária se não for realizado o tratamento adequado para estabilizar ou minimizar o avanço da doença o paciente pode vir a óbito (DNDI - DRUGS FOR NEGLECTED DISEASES INITIATIVE, 2018).

Segundo a DNDi — Iniciativa Medicamentos para Doenças Negligenciadas (em português), pacientes em países com malária endêmica necessitam de tratamentos com medicamentos baratos, eficazes e adaptados ao campo. Dessa maneira, produtos isolados a partir de fontes naturais permanecem a representar uma significativa fonte para a obtenção de protótipos candidatos a novos fármacos antimaláricos (BIOT, CHIBALE, 2006).

Assim a descoberta de novas drogas a partir de produtos naturais oriundos de plantas medicinais tem se tornado uma alternativa interessante para a indústria farmacêutica (OLIVEIRA, 2016). Uma vez que, essas plantas são capazes de fornecer fármacos extremamente importantes, difíceis de serem obtidos por síntese química, podendo ser levemente modificados, com tendência a se tornarem mais eficazes, a possuírem menor potencial tóxico e a apresentarem efeito terapêutico semelhante quando comparados aos fármacos sintéticos (TUROLLA, NASCIMENTO, 2006).

Muitos estudos evidenciam que os produtos naturais são a principal razão da diversidade química durante o processo de descobertas no ramo farmacêutico (FIRN, JONES, 2003; MISHRA, TIWARI, 2011). Assim, a natureza continua a influenciar na obtenção de novas moléculas importantes no desenvolvimento de fármacos para o tratamento de diversas doenças (LAM, 2007).

Sobretudo as pesquisas com produtos naturais vêm aumentando devido à busca por novos produtos com maior atividade farmacológica, com menor toxicidade e melhor biocompatibilidade, além de apresentarem custos mais acessíveis à população (AGRA et al., 2007).

Dessa forma, estudos vêm sendo realizados para avaliar as atividades biológicas de diversos compostos como saponinas, flavonoides, terpenos, esteroides, taninos e alcalóides presentes no metabolismo secundário das plantas medicinais. Logo, a literatura científica relata que esses podem apresentar diferentes propriedades terapêutica (QUINTANILLA, PINTO, 2014).

De modo que as pesquisas realizadas com plantas medicinais podem ser um recurso terapêutico para a doença de Chagas, assim possibilitando a produção de novos fármacos com elevada atividade biológica e um baixo nível de toxicidade (SIDDIQUE, SALEEM, 2011).

Os terpenos são oriundos do metabolismo secundário, caracterizados quimicamente como hidrocarbonetos insaturados e classificados de acordo com a quantidade de moléculas de carbono e unidade de isopreno em sua estrutura (LIRA, 2010). Assim, apresentando diferentes grupos incluindo monoterpenoides, sesquiterenóides, diterpenoides e triterpenoides isolados e descritos a partir do gênero (SOUTO, et al.,2016).

Contudo, estudos farmacológicos evidenciam que os terpenos possuem atividades anti-inflamatórias, anticancerígenas, antibacterianas, antioxidantes, hepatoprotectoras e antiprotozoárias. Assim, esse metabolito constitui uma rica fonte de compostos bioativos, bem como, demonstra elevado índice terapêutico (QUINTANILLA, PINTO, 2014; YAO, et al.,2016; SOUTO, et al.,2016).

Por sua vez, o triterpeno apresenta em sua composição 30 moléculas de carbono e seis unidades isoprênicas, sendo organizado em várias famílias, dentre estas destaca-se a família lupanos que agrupa uma substância do tipo triterpeno pentacíclico, conhecida como Lupeol (LIRA, 2010). Esse composto lupeol tem demonstrado eficácia no tratamento fitoterápico de algumas atividades biológicas, como por exemplo, alguns estudos mostraram propriedades antiprotozoárias, no qual o lupeol inibiu de forma significativa o crescimento de *T. cruzi* e *Leishmania* e sem os efeitos colaterais que os tratamentos médicos apresentam (SIDDIQUE, SALEEM, 2011).

Diante disso, e por existir poucos estudos desta área, torna-se essencial buscar novos tratamentos fitoterápicos, tendo este trabalho o objetivo de realizar a análise *in silico* do triterpeno lupeol quanto a sua eficácia na atividade antiprotozoária.

## **METODOLOGIA**

Para a realização dos estudos *in silico*, todas as informações químicas (estrutura química da molécula, massa molecular, polaridade, CAS-number) do terpeno selecionado (lupeol) foram obtidas no endereço eletrônico <http://www.chemspider.com/>.

Na análise das propriedades do lupeol optou-se pelo software Previsão do espectro de atividade para substâncias (PASS) online, que é um software gratuito projetado para avaliar o impacto do potencial biológico geral de uma molécula orgânica *in silico* sobre o organismo humano, onde fornece previsões simultâneas de muitos tipos de atividades biológicas com base na

estrutura dos compostos orgânicos. O espectro de atividade biológica de um composto químico é o conjunto de diferentes tipos de atividade biológica, que refletem os resultados de interação do composto com várias entidades biológicas. Pass online mostra várias particularidades da ação biológica de um composto, obtendo os índices Pa (probabilidade "de ser ativo") e Pi (probabilidade "de ser inativo") estimando a categorização de um composto potencial em ser pertencente à subclasse de compostos ativos ou inativos, respectivamente (SRINIVAS et al., 2014).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Estudos fitoquímicos realizados em frutos comestíveis como azeitona, figo, manga, morango, uvas vermelhas e em plantas medicinais, demonstraram a presença de um triterpeno pentacíclico conhecido como lupeol (SALEM, et al., 2001). Esse composto tem apresentado eficácia no tratamento fitoterápico de atividade antiprotozoária, por exemplo, um estudo realizado por Siddique e Saleem (2011) mostra propriedades antiprotozoárias, no qual o lupeol inibiu de forma significativa o crescimento de *T. cruzi* e *Leishmania* e sem os efeitos colaterais que os tratamentos médicos apresentam.

O efeito *in silico* do triterpeno lupeol, encontrado em varias espécies vegetais e agrupado na família lupanos, quanto à atividade antiprotozoária pode ser observado na tabela 1.

**Tabela 1** – Valores de Pa, Pi e atividade antiprotozoária para o triterpeno lupeol.

<b>Probabilidade de ser ativo (Pa)</b>	<b>Probabilidade de ser inativo (Pi)</b>	<b>Atividade biológica (antiprotozoária)</b>
0,404	0,018	Antiprotozoal
0,230	0,166	Antiprotozoal (Amoeba)
0,891	0,003	Antiprotozoal (Leishmania)
0,467	0,005	Antiprotozoal (Plasmodium)
0,236	0,164	Antiprotozoal (Trypanosoma)

O teste *in silico* demonstrou que o lupeol tem um elevado efeito antiprotozoário sobre os microrganismos: *Entamoeba histolytica*, *Trypanosoma cruzi*, *Plasmodium* e *Leishmania sp*, comprovado pela sua “Probabilidade de ser ativo” ser maior que a “Probabilidade de ser inativo”. Sobretudo, revelando um grande potencial inibitório na atividade do protozoário *Leishmania*, visto que apresenta um PA de 0, 891 em relação a um Pi de 0,003.

Dessa forma, os dados desta pesquisa vão de acordo com o estudo de Quintanilla et al (2014), cujo estudo objetivou a avaliação fitoquímicas de espécies do gênero *Serjania* evidenciando

a presença do composto lup-20(29)-en-3-ona, ou simplesmente, lupeol. Entre as propriedades biológicas avaliadas ressalta-se a atividade antiprotozoária do extrato etanólico de cascas de galhos de *S. lethalis* que apresentou expressiva atividade leishmanicida, contra promastigotas de *L. donovani*, aproximadamente 6 vezes maior que a apresentada pela anfotericina B um fármaco usado no tratamento da leishmaniose (QUINTANILLA et al, 2014).

O lupeol tem apresentado várias atividades farmacológicas e uma baixa toxicidade, visto que a ministração de até 2 g/kg, por via oral a ratos e camundongos não produziu efeitos colaterais significativos ou mortalidade (PATOCKA, 2003).

A atividade antiprotozoária sobre o microrganismo Plasmodium está descrita no estudo de Alves et al (1997) que realizou um estudo *in vitro* contra *Plasmodium falciparum* e *in vivo* em camundongos infectados com *Plasmodium berghei*. Para isto, utilizou um extrato hexânico de folhas de *Vernonia brasiliiana* (L.) Druce (Compositae), esse foi submetido a um protocolo de fracionamento guiado por bioensaio baseado no modelo *in vitro*. Assim como previsto nesta análise *in silico*, o lupeol foi identificado como um composto responsável pela atividade antiplasmódico, inibindo o crescimento do *P.falciparum* em 45% quando testado a 25 microgramas / ml. No entanto, este triterpeno foi inativo *in vivo* quando 15 mg / kg foram administrados durante o período de quatro dias consecutivos a camundongos infectados com *P. berghei* (ALVES et al., 1997).

Em relação à atividade antiprotozoária sobre o parasita *Trypanosoma cruzi* a pesquisa de Polanco-Hernández et al (2012) observou atividade antitrypanossoma em um estudo bioguiado, a partir do extrato de folhas da espécie *Serjania yucateensis* uma combinação de lup-20(29)-en-3-ona e óxido de  $\beta$ -cariofileno, cujo mostrou-se ativo contra formas tripomastigotas do parasito *T. cruzi* (IC<sub>50</sub>=80,3  $\mu$ g/mL). Esta mistura inibiu, na concentração de 100 $\mu$ g/mL, a saída de tripomastigotas das células VERO infectadas, sem exibir citotoxicidade (POLANCO-HERNÁNDEZ et al., 2012). Subsequentemente, uma análise *in vivo* desta mistura do triterpeno lupenona e do sesquiterpeno óxido de  $\beta$ -cariofileno demonstrou uma redução do número de amastigotas de *T. cruzi* excedente a 80 % no tecido cardíaco e no músculo esquelético de camundongos infectados, em doses de 20,8 mg·kg-dia (POLANCO-HERNÁNDEZ et al., 2013). Logo, o teste *in silico* do lupeol realizado neste trabalho apontou a probabilidade dessa atividade farmacológica.

Assim, a partir dos resultados é possível presumir que estudos com espécies vegetais que apresentam na sua composição o triterpeno lupeol têm uma chance maior de se apresentarem como significativos agentes antiamebíco, antitrypanossoma, antiplasmódico e antileishmania.

## CONCLUSÃO

Portanto, os dados apresentados confirmam que o lupeol apresenta relevante atividade antiprotozoária *in silico* sobre os parasitas: *Entamoeba histolytica*, *Trypanosoma cruzi*, *Plasmodium* e *Leishmania sp.* Desta forma pode-se afirmar que o lupeol poderá ser uma possível opção para o tratamento futuro de várias enfermidades causadas por protozoários, no entanto, mais estudos precisam ser realizados para comprovar os dados obtidos nesta pesquisa.

## AGRADECIMENTOS

A Universidade Federal de Campina Grande por proporcionar a expansão dos meus conhecimentos. Ao grupo de pesquisa LAFBIM pela ajuda e o apoio na realização deste trabalho. E ao professor Abrahão Alves de Oliveira Filho pela orientação, ajuda, paciência e dedicação a este estudo.

## REFERÊNCIAS

AGRA, M. F.; FREITAS, P. F.; BARBOSA-FILHO, J. M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Rev. bras. Farmacogn, São Paulo, v.17, n.1, p.114-140, 2007**

ALVES, T. M. A.; NAGEN, T. J.; CARVALHO, L. H.; KRETTLI, A. U.; ZANI, C. L. Antiplasmodial triterpene from *Vernoniabraziliana*. **Planta Médica, 63, 554-555, 1997.**

ARYA, V.; THAKUR, N.; KASHYAP, C. P. Preliminary phytochemical analysis of the extracts of *Psidium* leaves. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, v. 1, n. 1, 2012.**

BARBALHO, S. M. et al. *Psidium guajava* (Guava): A plant of multipurpose medicinal applications. **Med Aromat Plants, v. 1, n. 104, p. 2167-0412.1000104, 2012.**

BIOT, C.; CHIBALE, K. Novel approach to antimalarial drug discovery. **Infectious Disorders-Drug Targets, v. 6, p. 173-204, 2006.**

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Ações de controle da malária: manual para profissionais de saúde básica**. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 52p, 2006.

DAKAPPA, S. S. et al. A review on the medicinal plant *Psidium guajava* Linn (Myrtaceae). **Journal of Drug Delivery and Therapeutics**, v. 3, n. 2, 2013.

DNDI - DRUGS FOR NEGLECTED DISEASES INITIATIVE. (América latina). DOENÇAS E PROJETOS. Disponível em: <<https://www.dndial.org/doencas/>>. Acesso em: 04 maio 2018.

FIRN, R. D.; JONES, C. G. Natural products - a simple model to explain chemical diversity. *Natural Product Reports*, v. 20, p. 382-391, 2003.

GUTIÉRREZ, R. M. P.; MITCHELL, S.; SOLIS, R. V. *Psidium guajava*: a review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. **Journal of ethnopharmacology**, v. 117, n. 1, p. 1-27, 2008.

LAM, K. L. New aspects of natural products in drug discovery. **Trends in Microbiology**, v. 15, n. 6, p. 279-289, 2007.

LIRA, S. R. de S.. Estudo farmacológico dos efeitos gastrointestinais e comportamentais do lupeol e da dilactona do ácido valonérico, isolados de *Cenostigmamacrophyllum* Tul., em roedores [manuscrito]. 2010.

MISHRA, B. B.; TIWARI, V. K. Natural products: An evolving role in future drug discovery. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 46, p. 4769-4807, 2011.

OHANU, E. C.; INYANG-ETOH, P. C. The efficacy of plant extracts on cecalamebiasis in rats. **Veterinary Science Development**, v. 5, n. 1, 2015.

OLIVEIRA, Vinicius Filgueiras de. Análise in silico de um flavonoide natural com softwares gratuitos. 2016. 31 p. Monografia (Bacharel em Ciência da Computação), UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA, João Pessoa – PB, 2016.

PATOCKA, J. Biologically active pentacyclic triterpenes and their current medicinesignification. **Journal of Applied Biomedicine**, v.1,p . 7 – 12, 2003

POLANCO-HERNÁNDEZ, Glendy et al. Synergistic effect of lupenone and caryophyllene oxide against Trypanosoma cruzi. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2013, 2013.

POLANCO-HERNÁNDEZ, Glendy et al. Metabolites from the leaf extract of Serjania yucatanensis with trypanocidal activity against Trypanosoma cruzi. **Parasitology research**, v. 111, n. 1, p. 451-455, 2012.

QUINTANILLA, R. H. R.; PINTO, A. C. Constituintes Químicos e Propriedades Biológicas de Espécies do Gênero Serjania. **Revista Virtual de Química**, v. 6, n. 6, p. 1583-1606, 2014.

SALEEM, M.; ALAM, A. A. S.; SHAH, M. S.; AHMED, B.; SULTANA, S. Lupeol, a triterpene, inhibits early responses of tumor promotion induced by benzoyl peroxide in murine skin. **Pharmacological Research**, v.43, p.127-134., 2001.

SIDDIQUE, H. R.; SALEEM, M. Beneficial health effects of lupeol triterpene: a review of preclinical studies. **Life sciences**, v. 88, n. 7-8, p. 285-293, 2011.

SOUTO, I. C. C. et al. Atividade antimetastática e antineoplásica do monoterpeno 1, 8-cineol: um teste in silico. **Revista Brasileira de Educação e Saúde**, v. 6, n. 4, p. 53-55, 2016.

SRINIVAS, N.; SANDEEP, K. S.; ANUSHA, Y.; DEVENDRA, B. N. In Vitro Cytotoxic Evaluation and Detoxification of Monocrotaline (Mct) Alkaloid: An In Silico Approach. **Int. Inv. J. Biochem. Bioinform**, v.2, n.3, p.20-29, 2014.

THENMOZHI, S.; RAJAN, S. GC-MS analysis of bioactive compounds in Psidium guajava leaves. **J Pharmacogn Phytochem**, v. 3, n. 5, p. 162-6, 2015.

TUROLLA, M. S. R.; NASCIMENTO, E. S. Informações toxicológicas de alguns fitoterápicos utilizados no Brasil. **Rev. bras. Ciênc. Farmac**, São Paulo, v.42, n.2, p.289-306, 2006.

YAO, Jin-Long et al. A Review on the Terpenes from Genus Vitex. **Molecules**, v. 21, n. 9, p. 1179, 2016.