

PREVISÃO DE METABÓLITOS DO ALCALÓIDE PIRROLIZIDÍNICO SENECIONINA POR SIMULAÇÃO COMPUTACIONAL

Natália Fróes Veleda¹; Débora Hackbart Conde¹; Sandro Moreira Tuerlinckx²

¹ Discente do curso de Medicina Veterinária do Centro Universitário da Região da Campanha

² Dr., Docente do curso de Medicina Veterinária do Centro Universitário da Região da Campanha
nfveleda@hotmail.com

125

Os alcalóides pirrolizidínicos são pró-toxinas e a ativação metabólica é um pré-requisito para a toxicidade, sendo catalisados pelas monooxigenases do citocromo P450 hepático. Desta forma, o objetivo deste estudo foi verificar os tipos de metabólitos derivados do alcaloide pirrolizidínico senecionina, via citocromo P450 utilizando modelos in silico. As predições foram realizadas com o módulo de metabolismo do ADMET Predictor. Conclui-se que o alcaloide pirrolizidínico senecionina é substrato do citocromo P450, isoforma CYP3A4 e os metabólitos gerados pelo software ADMET Predictor são condizentes com as formas tóxicas da substância.

Palavras-chave: Biotransformação; modelos in silico; Senecio spp.; toxicologia.

INTRODUÇÃO

Os alcalóides pirrolizidínicos (APs) são toxinas naturais produzidas por mais de 6000 espécies de plantas como metabólitos secundários (WIEDENFELD e EDGAR, 2011).

Os seres humanos são expostos as toxinas de APs através do consumo de produtos fitoterápicos e suplementos alimentares (RUAN et al., 2015) ou pela ingestão de alimentos contaminados com APs, como grãos, mel, leite e ovos. Em animais de produção, as intoxicações por plantas que possuem alcaloides pirrolizidínicos estão entre as causas mais comuns de morte de bovinos adultos, resultando em perdas econômicas diretas e indiretas (SCHRAMM et al., 2019).

A toxicidade aguda induzida por APs ocorre principalmente no fígado com sintomas típicos de hepatomegalia, icterícia e ascite, conhecida como síndrome da obstrução sinusoidal hepática (CHOJKIER 2003).

A exposição prolongada a baixos níveis de APs presentes na dieta também pode contribuir para a forma crônica da toxicose, como cirrose hepática, tumores hepáticos e hipertensão arterial pulmonar (EDGAR et al, 2015).

Os APs são pró-toxinas e a ativação metabólica é um pré-requisito para a toxicidade, sendo catalisados pelas monooxigenases do citocromo P₄₅₀ hepático (CYP), o metabolismo dos APs forma os correspondentes metabólitos pirrólicos reativos e alcalóides de desidropirrolizidina (FU 2017).

As desidropirrolizidinas (desidro-PAs) são reativos quimicamente e biologicamente e podem hidrolisar rapidamente para a (±) -6,7-di-hidro-7-hidroxi-1-hidroximetil-5H-pirrolizina (DHP) menos reativa. Tanto os desidro-PAs quanto o DHP podem se ligar covalentemente às proteínas celulares e ao DNA para formar adutos de proteína pirrol, adutos de pirrol-DNA e adutos de reticulação. Esses adutos estão correlacionados com citotoxicidade e genotoxicidade induzidas por APs (ZHU et al., 2017; MA et al., 2018).

A análise da produção e de efeito de metabólitos pelos processos de biotransformação biológica requer métodos morosos e de custo elevado. Alternativamente, a simulação computacional (modelagem molecular *in silico*), torna essa análise rápida e viável, pois consiste na aplicação de métodos teóricos utilizados para representar ou mimetizar o comportamento e interação de moléculas (DJOUMBOU-FEUNANG et al., 2019). Neste sentido, o objetivo deste estudo foi verificar os tipos de metabólitos derivados do alcaloide pirrolizidínico senecionina, via citocromo P₄₅₀ utilizando modelos *in silico*.

METODOLOGIA

As previsões de isoformas P₄₅₀ potencialmente envolvidas no metabolismo oxidativo da Senecionina, bem como possíveis locais de metabolismo, foram realizadas usando o software ADMET Predictor™ 9.5 (Simulations Plus, Lancaster, CA, EUA). A estrutura química em 3D do alcaloide Senecionina foi obtida em formato de arquivo SDF na plataforma PUBCHEM e carregada para o software ADMET Predictor™ 9.5.

O módulo de metabolismo do ADMET Predictor foi usado com configurações padrão para classificar a Senecionina como substrato ou não dos citocromos P₄₅₀ humanos (isoformas CYP1A2, CYP2A6, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C19, CYP2C9,

CYP2D6, CYP2E1 e CYP3A4). Os tipos de reações do módulo incluem hidroxilação alifática e aromática, N- e O-desalquilações, sulfoxidação, N-hidroxilação, formação de N-óxido, dessulfuração e epoxidação. Além disso, diferentes locais atômicos susceptíveis a oxidação foram previstos e atribuídos uma pontuação de 0-1000, com o valor mais alto indicando uma maior propensão de ser um sítio de metabolismo e com geração de imagem no módulo *MedChem Designer*.

127

Para validação dos resultados, os dados também foram submetidos na plataforma *BioTransformer* de acordo com DJoumbou-Feunang et al., (2019).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A senecionina foi identificada como substrato do citocromo P₄₅₀, isoforma CYP3A4 utilizando-se o módulo de metabolismo do ADMET Predictor. Os principais pontos de oxidação exercidos pelo CYP3A4 sobre a estrutura da senecionina são demonstrados na figura 1. O ataque oxidativo ocorre principalmente sobre os carbonos 10 e 12 e também sobre o átomo de nitrogênio na posição 6 do anel pirrolizidínico (necina base), com pontuações de 849, 874 e 920, respectivamente.

Conforme Klaassen (2018), os alcalóides pirrolizidínicos tóxicos, como a senecionina, são arilaminas cíclicas que são desidrogenadas pelo citocromo P₄₅₀ (CYP3A4) nos pirróis correspondentes. Os próprios pirróis são nucleófilos, mas os eletrófilos são gerados pela perda de substituintes no núcleo da pirrolizidina.

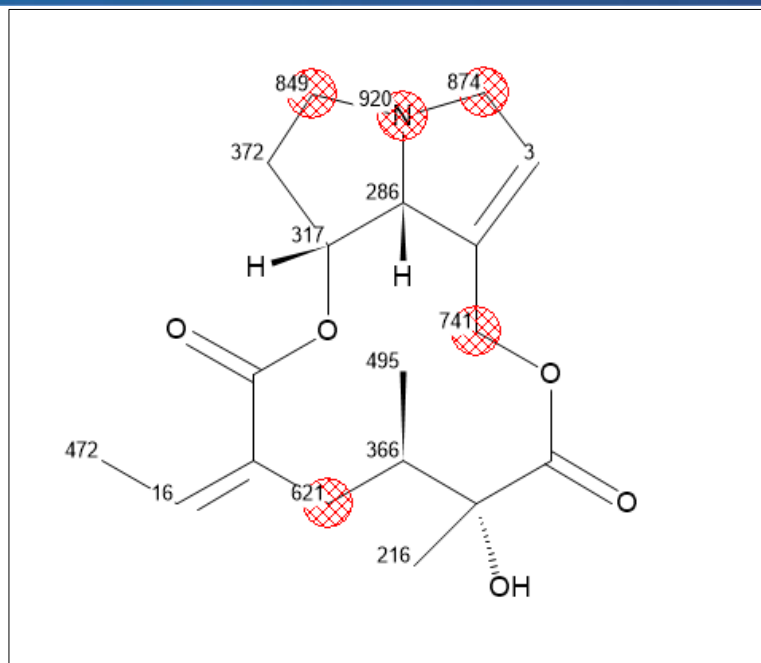


Figura 1. Sítios de metabolismo pelo CYP3A4 sobre a estrutura do alcaloide pirrolizidínico senecionina previstos no software ADMET Predictor™ 9.5 e geração de imagem no módulo *MedChem Designer*. Círculos destacados em vermelho indicam os locais atômicos mais susceptíveis a oxidação.

CONCLUSÃO

Deverá O alcaloide pirrolizidínico senecionina é substrato do citocromo P450, isoforma CYP3A4 e os metabólitos gerados pelo software ADMET Predictor são condizentes com as formas tóxicas da substância.

AGRADECIMENTOS (opcional)

A PROEN/URCAMP por viabilizar o projeto.

REFERÊNCIAS

CHOJKIER M. Hepatic sinusoidal-obstruction syndrome: toxicity of pyrrolizidine alkaloids. *J Hepatol* 2003;39:437-46;

DJOUMBOU-FEUNANG Y, FIAMONCINI J, GIL-DE-LA-FUENTE A, GREINER R, MANACH C, WISHART DS. BioTransformer: a comprehensive computational tool for

small molecule metabolism prediction and metabolite identification. **J Cheminform.** 2019;11(1):2. doi:10.1186/s13321-018-0324-5;

EDGAR JA, MOLYNEUX RJ, COLEGATE SM. Pyrrolizidine alkaloids: potential role in the etiology of cancers, pulmonary hypertension, congenital anomalies, and liver disease. **Chem Res Toxicol** 2015;28:4-20;

FU PP. Pyrrolizidine alkaloids: metabolic activation pathways leading to liver tumor initiation. **Chem Res Toxicol** 2017;30:81-93;

IPCS. **Poisons information monograph (484) on senecio vulgaris I.** (september 1 989). Available from, as of september 15, 2003: <http://www.inchem.org/documents/pims/plant/senecio.htm>;

KLAASSEN, C.D. (ed). Casarett and Doull's Toxicology. **The Basic Science of Poisons.** 9th ed. New York, NY: McGraw-Hill, 2018., p. 190;

MA J, XIA Q, FU PP, Lin G. Pyrrole-protein adducts - A biomarker of pyrrolizidine alkaloid-induced hepatotoxicity. **J Food Drug Anal.** 2018;26(3):965-972. doi:10.1016/j.jfda.2018.05.005;

RUAN J, GAO H, LI N, XUE J, CHEN J, KE C, et al. Blood pyrrole-protein adducts-A biomarker of pyrrolizidine alkaloid-induced liver injury in humans. **J Environ Sci Health Part C e Environ Carcinog Ecotoxicol** 2015;33:404-21;

SCHRAMM S, KÖHLER N, ROZHON W. Pyrrolizidine Alkaloids: Biosynthesis, Biological Activities and Occurrence in Crop Plants. **Molecules.** 2019;24(3):498. Published 2019 Jan 30. doi:10.3390/molecules24030498;

SIMULATIONS PLUS Inc. (2020). Available: <http://www.simulations-plus.com/> [accessed 16 September 2020];

WIEDENFELD H, EDGAR J. Toxicity of pyrrolizidine alkaloids to humans and ruminants. **Phytochem Rev** 2011;10:137-51;

ZHU L, XUE J, XIA Q, FU PP, LIN G. The long persistence of pyrrolizidine alkaloid-derived DNA adducts in vivo: kinetic study following single and multiple exposures in male ICR mice. **Arch Toxicol** 2017;91:949-65.