

MÉTODOS COMPUTACIONAIS PARA PREDIÇÃO DA TOXICIDADE DE ALCALÓIDES PIRROLIZIDÍNICOS

95

Débora Hackbart Conde ¹; Natália Fróes Veleda ¹; 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
deboraconde191503@sou.urcamp.edu.br

Alcalóides pirrolizidínicos são toxinas naturais produzidas por diversas espécies de plantas como metabólitos secundários, ocasionando principalmente hepatotoxicidade. A análise simultânea de vários alcalóides sobre diferentes parâmetros toxicológicos é um obstáculo para ampliar o entendimento sobre a patogenia da intoxicação. Desta forma, as abordagens computacionais permitem o perfil de grandes conjuntos de dados e a otimização interativa de compostos. O objetivo do presente estudo foi usar uma metodologia *in silico* para prever a toxicidade de alcalóides pirrolizidínicos derivados de plantas de *Senecio* sp. As estruturas lineares das moléculas de alcalóides pirrolizidínicos foram recuperadas da plataforma *PubChem* e inseridos em conjunto na plataforma *SWISSADME* para a predição da absorção gastrointestinal passiva e a permeabilidade à barreira hemato-encefálica. Além disso, as propriedades toxicológicas foram obtidas por intermédio da aplicação dos *SMILES* no software *ADMET Predictor 9.5*. Os resultados demonstraram que os alcalóides pirrolizidínicos apresentam boa absorção gastrointestinal, porém sem capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica e induzem aberrações cromossômicas, alterações reprodutivas e elevação de enzimas hepáticas. Conclui-se que a modelagem computacional prediz de forma adequada a toxicidade induzida por alcalóides pirrolizidínicos.

Palavras-chave: Alcaloides pirrolizidínicos; Patogenia; Toxicodinâmica, Toxicologia computacional.

INTRODUÇÃO

Na estratégia de ensaios de toxicidade e planejamento racional de fármacos, os estudos dos processos evolutivos de reconhecimento molecular em sistemas biológicos assumem grande importância, pois constituem as bases fundamentais para a potência, afinidade e seletividade das substâncias químicas por seus receptores alvos. Os modelos tradicionais de pesquisa básica estão progressivamente dando lugar a estratégias modernas baseadas em uma combinação de especialidades atuando em caráter multi- e interdisciplinar. Neste contexto, a química medicinal moderna envolve a aplicação de métodos computacionais como a modelagem molecular, que contribuem

significativamente para a otimização de propriedades farmacodinâmicas e farmacocinéticas de moléculas bioativas (ZHANG et al., 2020).

A modelagem molecular pode avaliar parâmetros toxicológicos de substâncias frente a alvos importantes e planejar teoricamente novas moléculas que satisfaçam as propriedades eletrônicas e estruturais para um perfeito encaixe no sítio receptor (KITCHEN et al., 2004). Dentro deste contexto, a relação quantitativa estrutura-atividade (QSR ou QSPR) é o processo pelo qual uma estrutura química está quantitativamente correlacionada com um processo bem definido, como atividade biológica ou reatividade química (VERMA et al., 2010).

As intoxicações por plantas que possuem alcaloides pirrolizidínicos (APs) estão entre as causas mais comuns de morte de bovinos adultos, resultando em perdas econômicas diretas e indiretas (SANDINI et al., 2013; SCHRAMM et al., 2019).

A toxicidade induzida por APs ocorre principalmente no fígado porém, também podem ser observados toxicidade em tecidos extra-hepáticos (GOMEZ-ARROYO et al., 2012; EDGAR et al., 2015).

O objetivo do presente estudo foi usar uma abordagem *in silico* para prever a toxicidade de alcalóides pirrolizidínicos derivados de plantas de *Senecio* sp.

METODOLOGIA

Todas as estruturas tridimensionais das moléculas de alcaloides pirrolizidínicos foram recuperadas do PubChem em formato de entrada de linha molecular simplificada canônica (SMILES) para predizer o caráter toxicológico, conforme KIM et al. (2021).

Para a determinação dos parâmetros de toxicocinética, os SMILES foram inseridos em conjunto na plataforma SWISSADME, como descrito por DAINA et al. (2017). A metodologia aplicada consiste principalmente no *BOILED-Egg*, um modelo de classificação construído para prever simultaneamente dois

parâmetros importantes de toxicocinética, ou seja, a absorção gastrointestinal passiva (HIA) e a permeabilidade à barreira hemato-encefálica (BBB) a partir de dois descritores físico-químicos (*WLOGP* e *TPSA*, para lipofilicidade e polaridade aparente) e que apresenta elevada significância estatística e robustez (DAINA e ZOETE, 2016).

As previsões de propriedades toxicológicas foram obtidas por intermédio da aplicação dos *SMILES* no software ADMET Predictor 9.5. ADMET Predictor é um programa de computador de última geração, que requer informações da estrutura molecular 2D ou 3D, analisa a estrutura e calcula os valores dos descritores moleculares. O programa usa os valores do descritor molecular como entradas para modelos matemáticos independentes (geralmente, técnicas de aprendizado de máquina não linear) a fim de gerar estimativas para cada um dos parâmetros toxicológicos.

Os dados obtidos foram organizados para representação gráfica em forma de *heatmap* ou mapa de calor (PLOTLY TECHNOLOGIES, 2015).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com base nos resultados demonstrados na figura 1, podemos observar que os alcalóides pirrolizidínicos encontram-se dentro da elipse branca, mas fora da região amarela, indicando que ocorre absorção gastrointestinal (HIA+), porém sem capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica (BBB-). Além disso, pode-se constatar que os alcalóides Senecionina (1), senecifilina (3) e *N*-óxido de Senecifilina (4) foram considerados como não-substratos da glicoproteína-P (PGP-). Estes dados estão de acordo com Moreira et al., (2018), que destacam a boa capacidade de absorção gastrointestinal dos APs.

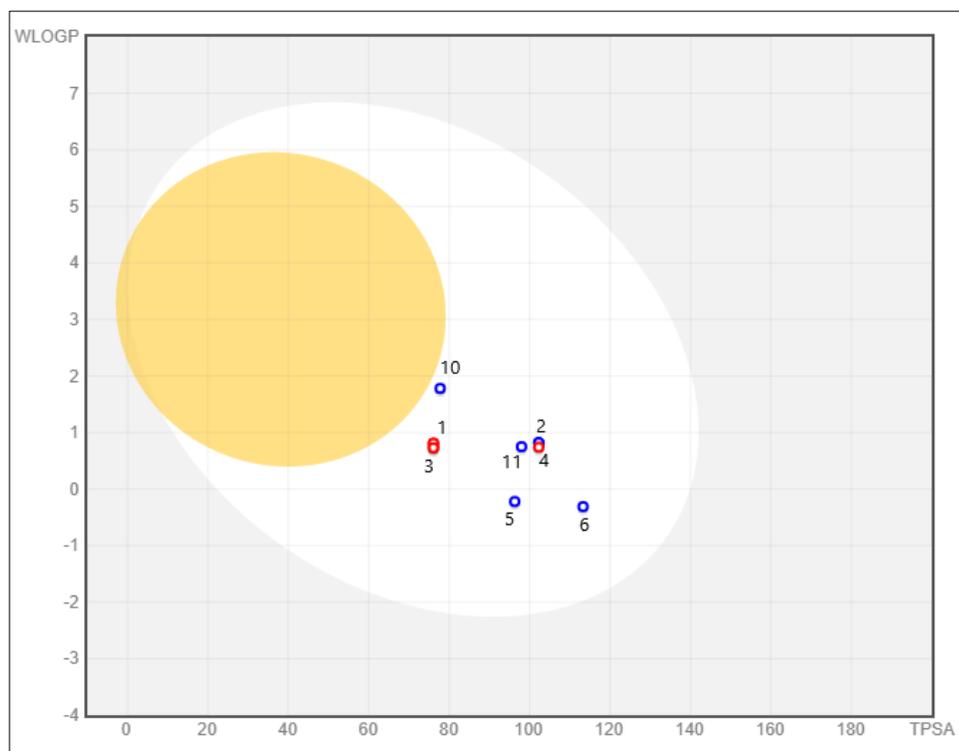


FIGURA 1. Absorção gastrointestinal passiva (HIA) e penetração cerebral (BBB) em função da posição das moléculas no referencial *WLOGP*- versus -*TPSA*. A região branca é para alta probabilidade de absorção passiva pelo trato gastrointestinal, e a região amarela (gema) é para alta probabilidade de penetração no cérebro. A gema e a área branca não são mutuamente excludentes. Os pontos coloridos em azul se previsto como substrato para P-gp (PGP+) e em vermelho se previsto como não substrato de P-gp (PGP-).

1) Senecionina, **2)** N-óxido de senecionina, **3)** Senecifilina, **4)** N-óxido de Senecifilina, **5)** Retrorsina, **6)** N-óxido de Retrorsina, **7)** Integerrimina, **8)** N-óxido de Integerrimina, **9)** Usaramina, **10)** Dehidrosenecionina, **11)** Dehidroretrorsina.

A partir dos resultados observados na figura 2, pode-se constatar que o modelo computacional empregado no *ADMET Predictor 9.5* foi capaz de prever que os alcalóides pirrolizidínicos induzem aberrações cromossômicas, alterações reprodutivas e elevação de enzimas hepáticas. Estes resultados são sustentados pelos dados descritos por Yang et al., (2016) e Moreira et al., (2018).

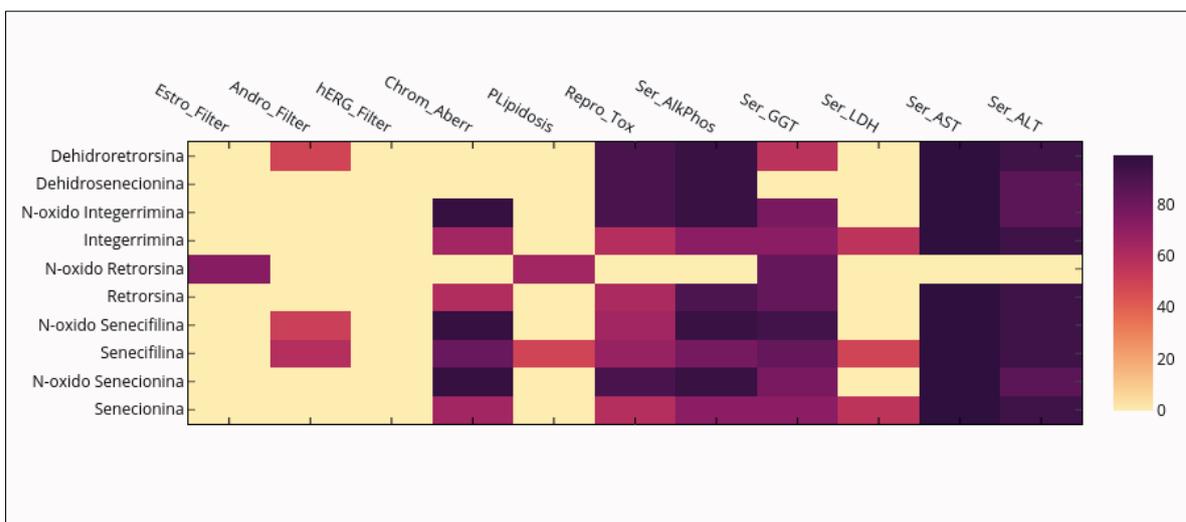


FIGURA 2. Heatmap representando a ação dos alcalóides pirrolizidínicos sobre os diferentes parâmetros analisados.

CONCLUSÃO

Conclui-se que a modelagem computacional prediz de forma adequada a toxicidade induzida por alcaloides pirrolizidínicos.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a PROEN/URCAMP pela disponibilização de bolsas de iniciação científica.

REFERÊNCIAS

DAINA, A., MICHIELIN, O. & ZOETE, V. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. **Sci Rep** 7, 42717 (2017). <https://doi.org/10.1038/srep42717>

DAINA, A; ZOETE, V. A BOILED-Egg To Predict Gastrointestinal Absorption and Brain Penetration of Small Molecules. **Chem Med Chem** 2016, 11, 1117. <https://doi.org/10.1002/cmdc.201600182>

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.

GOMEZ-ARROYO JG, FARKAS L, ALHUSSAINI AA, FARKAS D, et al. The monocrotaline model of pulmonary hypertension in perspective. **Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol** 2012;302:L363e9.

KIM S, CHEN J, CHENG T, et.al. **PubChem** in 2021: new data content and improved web interfaces. *Nucleic Acids Res.* 2021 Jan 8;47(D1):D1388-D1395. doi: 10.1093/nar/gkaa971. PMID: 33151290

KITCHEN, D. B., DECORNEZ, H., FURR, J. R., AND BAJORATH, J. 2004. Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: Methods and applications. **Nature** 3: 935–49

MOREIRA R, PEREIRA DM, VALENTÃO P, ANDRADE PB. Pyrrolizidine Alkaloids: Chemistry, Pharmacology, Toxicology and Food Safety. **Int J Mol Sci.** 2018 Jun 5;19(6):1668. doi: 10.3390/ijms19061668. PMID: 29874826; PMCID: PMC6032134.

PLOTLY TECHNOLOGIES INC. **Collaborative data science**. Montréal, QC; 2015, <https://chart-studio.plotly.com/>

SANDINI, Thaísa Meira; UDO, Mariana Sayuri Berti; SPINOSA, Helenice de Souza. Senecio brasiliensis e alcaloides pirrolizidínicos: toxicidade em animais e na saúde humana. **Biotemas**, Florianópolis, v. 26, n. 2, p. 83-92, fev. 2013. ISSN 2175-7925. doi:<https://doi.org/10.5007/2175-7925.2013v26n2p83>.

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

YANG M, RUAN J, FU PP, Lin G. Cytotoxicity of pyrrolizidine alkaloid in human hepatic parenchymal and sinusoidal endothelial cells: firm evidence for the reactive metabolites mediated pyrrolizidine alkaloid-induced hepatotoxicity. **Chem Biol Interact** 2016;243:119e26.

ZHANG H, MAO J, QI HZ, DING L. *In silico* prediction of drug-induced developmental toxicity by using machine learning approaches. **Mol Divers.** 2020 Nov;24(4):1281-1290. doi: 10.1007/s11030-019-09991-y. Epub 2019 Sep 5. PMID: 31486961.