

Triagem *in silico* de bioatividade de compostos encontrados na espécie *Ximenia Americana*

In silico screening of compounds found in the *Ximenia Americana* species

Camila Moreira Caetano Vaz¹

Giovanna Siqueira Bocchi¹

Leonardo Luiz Borges²

Resumo

Trata-se de um estudo experimental computacional (*in silico*) com o objetivo de elucidar os efeitos biológicos ativos de compostos encontrados na espécie *X. americana* ("ameixa selvagem") e eleger as moléculas potenciais para ação biológica hipoglicemiante. Os componentes químicos da *Ximenia americana* foram levantados em literatura por meio dos sites Pubmed, Scielo e SienceDirect. A determinação de propriedades farmacocinéticas e de mecanismos de ação dos compostos identificados na *X. americana* foi feita pelas plataformas "SwissADME", "SwissTarget", "PASS Prediction" e "Protox II". Para maior compreensão das atividades biológicas potenciais para efeito antidiabético, utilizou-se a base de dados "BindingDB", associada ao servidor Pharmagist, a fim de reconhecer potenciais grupos farmacofóricos presentes na molécula candidata. Foram identificados 29 compostos químicos na espécie *Ximenia americana*, a partir da revisão bibliográfica. Ao se considerar as predições farmacocinética e toxicológica, apenas 3 moléculas (beta-glucogalina, quercitina-3-O-alfa-arabinofuranosídeo e alfa-D-manofuranosídeo) apresentaram-se promissoras à atividade biológica; estas com propriedades adequadas para serem candidatas à atividade biológica hipoglicemiante em seres humanos. O aumento da prevalência de síndrome metabólica percebido na sociedade atual justifica a necessidade de busca por novas moléculas, possivelmente modificadoras da doença e com menos efeitos colaterais que os fármacos atualmente utilizados. Os resultados do presente estudo favorecem desenvolvimento de futuros testes *in vitro* e *in vivo* que corroborem com as análises *in silico* obtidas nesta pesquisa.

Palavras-chave: Plantas Medicinais; Efeito Hipoglicemiante; Modelagem Farmacofórica; Produtos naturais.

¹ Graduanda em Medicina pela Pontifícia Universidade Católica de Goiás (PUC Goiás).

² Doutor em Ciências Farmacêuticas, professor da Pontifícia Universidade Católica de Goiás (PUC Goiás) e da Universidade Estadual de Goiás (UEG).

Abstract

This is a computational experimental study (*in silico*) with the objective of elucidating the active biological effects of compounds found in the species *Ximenia americana* ("wild plum") and choosing potential molecules for hypoglycemic biological action. The chemical components of *X. americana* were identified in the literature through the websites Pubmed, Scielo and ScienceDirect. The determination of pharmacokinetic properties and mechanisms of action of the compounds identified in *X. americana* was carried out using the "SwissADME", "SwissTarget", "PASS Prediction" and "Protox II" platforms. To better understand the potential biological activities for antidiabetic effects, the "BindingDB" database was used, associated with the Pharmagist server, in order to recognize potential pharmacophoric groups present in the candidate molecule. Twenty-nine chemical compounds were identified in the species *Ximenia americana*, based on the literature review. When considering pharmacokinetic and toxicological predictions, only 3 molecules (beta-glucogalin, quercetin-3-O-alpha-arabinofuranoside and alpha-D-mannofuranoside) showed promise for biological activity; these with suitable properties to be candidates for hypoglycemic biological activity in humans. The increased prevalence of metabolic syndrome perceived in today's society justifies the need to search for new molecules, possibly disease-modifying and with fewer side effects than the drugs currently used. The results of the present study favor the development of future *in vitro* and *in vivo* tests that corroborate the *in silico* analyzes obtained in this research.

Keywords: Medicinal plants; Hypoglycemic Effect; Pharmacophoric Modeling; Natural Products.

INTRODUÇÃO

As plantas medicinais são utilizadas na medicina popular a partir de extrações naturais ou, após industrialização, na forma de fitoterápicos, desde o início das civilizações. Já na medicina moderna, a retomada do uso de plantas medicinais pode explicar-se pelo alto custo e presença de muitos efeitos colaterais de alguns medicamentos sintéticos^{1,2}. No campo na etnofarmacologia, há a possibilidade de estudos, para obtenção de novos fármacos, realizados, atualmente, por ferramentas computacionais (abordagem *in silico*), com menor envolvimento de custos e de questões éticas relacionadas ao estudo com seres vivos, além de possuírem resultados mais confiáveis³.

A *Ximenia americana* ("ameixa selvagem") é uma árvore silvestre presente em locais como Nova Zelândia, Índia, África, América Central e América do Sul e, no Brasil, está presente sobretudo na região de Caatinga⁴. As espécies do gênero *Ximenia* são popularmente utilizadas para tratar dores de estômago, sífilis, reumatismo, câncer, infecções bucais e, mais recentemente, a espécie *X. americana* tem sido estudada pelo seu potencial hipoglicemiante. Estudos *in vitro* realizaram diferentes extrações da planta e utilizaram-nas para revelar a capacidade de absorção de glicose em células de leveduras e inibição da enzima alfa-amilase⁵, sendo esse mecanismo já utilizado, inclusive, por fármacos hipoglicemiantes, para manejo de diabetes.

A hiperglicemia crônica é fator de risco para comorbidades relacionadas, sobretudo, às vasculopatias e às neuropatias, como a retinopatia diabética, a doença renal crônica e a doença arterial periférica⁶. A síndrome metabólica, nesse contexto, caracteriza-se por um conjunto de alterações que aumentam o risco cardiovascular do indivíduo, sendo a fisiopatologia normalmente relacionada à obesidade central e à resistência insulínica; isto é, condições semelhantes às que



ocorrem no Diabetes Mellitus (DM) tipo 2. Segundo o *National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III*, estabelece-se os seguintes critérios para síndrome metabólica: circunferência abdominal maior que 102cm para homens e maior que 88cm para mulheres; dosagem sérica de triglicerídeos a partir de 150mg/dL, e de HDL menor que 40mg/dL para homens e menor que 50mg/dl para mulheres; pressão arterial sistólica a partir de 130mmHg ou diastólica a partir de 85mmHg; e glicemia de jejum a partir de 110mg/dL. A combinação de pelo menos 3 critérios entre os citados anteriormente determina o diagnóstico⁷.

O tratamento atual da hiperglicemia crônica, a fim de se obter controle glicêmico rigoroso, é feito com a combinação de mudança de estilo de vida e uso de fármacos com mecanismos de ação diversos. Dentre esses mecanismos, destacam-se: aumento da sensibilidade hepática à insulina, estímulo à captação muscular de glicose, ação agonista às incretinas, inibição do transportador de glicose ligado ao sódio 2 (SGLT-2), inibição da dipeptidil peptidase 4 (DPP-4) e inibição da alfa-glicosidase⁶.

Além da predisposição genética, a alimentação inadequada (rica em açúcares e gorduras – “padrão ocidental”) e a inatividade física contribuem para o desenvolvimento da síndrome. Ao se reconhecer o estilo de vida da atualidade, percebe-se o aumento da prevalência da obesidade em vários países⁷. Entende-se, portanto, a relevância de pesquisas acerca de moléculas e mecanismos de ação relacionados à redução da resistência insulínica, ao metabolismo da glicose e ao efeito antidiabético, como os esperados com o uso da *X. americana*.

MÉTODOS

Trata-se de um estudo experimental computacional, com métodos *in silico*, no qual se fez a análise de propriedades favoráveis à ação biológica de moléculas presentes na *X. americana* já descritas em literatura.

Triagem in silico de bioatividade

Fez-se o levantamento bibliográfico para identificar compostos químicos obtidos a partir de extrações de diferentes partes da *Ximenia americana*, utilizando-se os descritores “*Ximenia americana*” e “Chemical compounds”^{5,8}. A triagem desses componentes foi feita pela predição farmacocinética a partir da plataforma “SwissADME”⁹, pelas predições de atividade biológica feitas pelo “PASS Prediction”¹⁰ e pela predição de toxicidade pela plataforma “ProTox-II”¹¹.



Modelagem farmacofórica

Para melhor compreensão do efeito hipoglicemiante esperado com o uso da *X. americana*, utilizou-se a base de dados "BindingDB"¹², a fim de reconhecer e comparar com outras moléculas que atuam de forma potente (menor IC₅₀) sobre alvos responsáveis por atividades hipoglicemiantes. Essa comparação espacial farmacofórica foi realizada por meio do software Pharmagist^{13,14}.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram identificados 29 compostos químicos na espécie *Ximenia americana*^{5,8}. Com o objetivo de levantar moléculas com potencial efeito de hipoglicemiante e com propriedades farmacocinéticas desejáveis, a classificação "druglike" (possuir biodisponibilidade por via oral semelhante a fármacos já conhecidos)⁹, a ausência de inibição sobre citocromos P450 hepáticos e ausência de penetração através da barreira hematoencefálica (evitar efeitos colaterais) foram características consideradas, de modo que 4 moléculas respeitaram a esses filtros. As predições de atividade biológica, feitas pelo "PASS Prediction"¹⁰, tiveram enfoque nas atividades relacionadas à dinâmica da glicemia e da insulina dessas 4 moléculas. Com a predição de toxicidade, pela plataforma "ProTox-II"¹¹, apenas 3 (beta-glucogalina, quercitina-3-O-alfa-arabinofuranosídeo e alfa-D-manofuranosídeo) entre as 4 moléculas em questão, apresentavam segurança classe 5 ou superior (tabela 1).

A avaliação de atividade pelo "PASS Prediction"¹⁰ permitiu a identificação de atividades hipoglicemiantes promissoras: inibição da fosfatase de açúcar (enzima glicose-6-fosfatase), inibição da alfa-glicosidase, inibição da beta-glucorinidase e inibição da glicerol-desidrogenase (enzima álcool-desidrogenase).

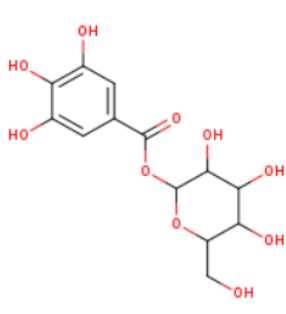
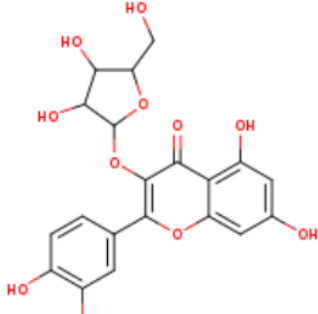
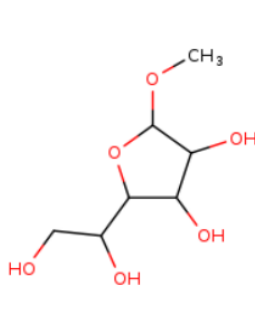
A partir da plataforma "BindingDB"¹² obteve-se moléculas que sabidamente atuam com alta potência (menor IC₅₀) sobre os alvos citados anteriormente, o que permitiu o estudo de semelhanças estruturais com as moléculas mais promissoras da *X. americana*, através de modelos farmacofóricos feitos pela plataforma "PharmaGist"¹⁴.

A glicose-6-fosfatase está localizada no fígado e é responsável por etapas finais da gliconeogênese e glicogenólise, e, sabidamente, tem atividade exacerbada em indivíduos diabéticos¹⁵. A alfa-glicosidase está presente no intestino e é capaz de converter carboidratos complexos em carboidratos absorvíveis durante a digestão¹⁶. A beta-glicuronidase é uma enzima lisossômica responsável por catalisar a ligação glicosídica dos glicanos, e sua atividade está aumentada no DM, o que pode significar metabolização de glicose por uma via paralela à da insulina¹⁷. Já a glicerol-desidrogenase (álcool desidrogenase) atua na glicólise e no metabolismo de ácidos graxos e está implicada no aumento da glicemia via gliconeogênese¹⁸.



Dessa maneira, propõe-se que efeito inibitório sobre enzimas as glicose-6-fosfatase, alfa-glicosidase, beta-glicuronidase e glicerol-desidrogenase, que catalisam reações de que aumentam glicose disponível e livre, seriam alguns dos mecanismos hipoglicemiantes utilizados pelos compostos bioativos da *X. americana*.

Tabela 1. Propriedades compostos da *Ximenia americana* obtidas nos programas Molinspiration e Swiss ADME.

	beta-glucogalina	quercitina-3-O-alfa-arabinofuranosídeo	alfa-D-manofuranosídeo
MW	332,26	434,35	194,18
LogP	-1,48	0,80	-1,50
O/N	10	11	6
OH/NH	7	7	4
Violações	1	2	0
TPSA	177,13	190,28 Å ²	99,38 Å ²
Rotb	4	4	3
Volume	267,22	347,36	169,34
Predição de toxicidade	Hepatotoxicidade; carcinogênico; imunotoxicidade; mutagênico; citotoxicidade LD50 = 2260mg/kg	Hepatotoxicidade; carcinogênico; imunotoxicidade; mutagênico; citotoxicidade LD50 = 5000mg/kg	Hepatotoxicidade; carcinogênico; imunotoxicidade; mutagênico; citotoxicidade LD50 = 29700mg/kg
Estrutura			

Abreviações: MW: molecular weight; LogP: coeficiente de partição de água/octanol; O/N: número de receptores de hidrogênio; OH/NH: número de doadores de hidrogênio; violações: número de violações das regras de Lipinski; TPSA: área de superfície polar; Rotb: número de ligações rotativas

O Diabetes Mellitus (DM) é uma doença crônica não-transmissível, caracterizada por redução da síntese, da secreção ou da atuação da insulina e, assim, o estabelecimento de estado hiperglicêmico. É definida laboratorialmente pela glicemia em jejum a partir de 126mg/dL, hemoglobina glicosilada a partir de 6,5% e/ou glicemia após TOTG com 75g de glicose a partir de 200mg/dL. Em 2021, a prevalência global de diabetes em adultos entre 20 e 79 anos foi de 10,5%, o que corresponde a 537 milhões de pessoas vivendo com diabetes ao redor do mundo. Apesar da instituição de novos métodos terapêuticos com o passar dos anos, a prevalência dessa doença permanece alta, em decorrência do aumento da expectativa de vida, da mudança do padrão alimentar (dieta hipercalórica e rica em carboidratos) e da redução da prática de atividades físicas; todos esses fatores atuando em uma população geneticamente suscetível. É também responsável por importância morbidade, relacionada ao aumento do risco cardiovascular (sobretudo por complicações micro e macrovasculares). A Organização Mundial de Saúde (OMS) considera, inclusive, que a glicemia elevada seja o terceiro fator mais relevante em mortalidades prematuras¹⁹.

Há de se ressaltar que, na grande maioria dos casos, ocorre a sobreposição de condições clínicas de risco – hipertensão arterial, DM e dislipidemia¹⁹, que pode caracterizar, na grande maioria, a ocorrência de síndrome metabólica. Justifica-se, por conseguinte, a importância de pesquisas incessantes sobre o tema, que também abranjam a busca por novos fármacos hipoglicemiantes, mesmo aqueles de origem natural, como o uso promissor de extratos da *X. americana*.

Atualmente, o tratamento do DM baseia-se em alterações no estilo de vida (prática de atividades físicas, controle nutricional, controle de peso) e em terapias medicamentosas. Os fármacos utilizados estimulam a secreção da insulina (sulfonilureias) e a captação periférica de glicose (biguanidas, tiazolidinedionas), retardam a absorção intestinal da glicose (inibidores da alfa-glicosidase), estimulam ou prolongam o efeito das incretinas (agonistas do GLP1 ou inibidores da DPP4) e inibem a reabsorção de glicose nos rins (inibidores do SGLT); havendo também a possibilidade de uso de insulino terapia⁶.

Ademais, em estudo *in vitro*, realizado a partir da extração de componentes químicos das folhas da *X. americana*, utilizando diferentes solventes, testou-se a atividade antidiabética dos cinco extratos obtidos e evidenciaram-se a maior capacidade de absorção de glicose em células de leveduras e a inibição da enzima alfa-amilase⁵. A análise *in silico*, nesse sentido, sugere quais são as principais moléculas responsáveis pelo efeito antidiabético, suas propriedades farmacocinéticas e toxicológicas e a predição de receptores-alvo e de atividades.

À vista disso, as moléculas beta-glucogalina, quercitina-3-O-alfa-arabinofuranosídeo e alfa-D-manofuranosídeo, presentes na *X. americana*, passaram por todos os filtros de predição de atividade biológica antidiabética e obtiveram predições de atividade hipoglicemiantes, como inibição da fosfatase de açúcar, inibição da alfa-glicosidase e inibição da glicerol-desidrogenase, que evidentemente contribuíram para se obter efeito hipoglicemiante. Entende-se que a utilização de moléculas de origem natural possivelmente carrega menos efeitos adversos ao uso, em comparação com os atuais fármacos disponíveis no mercado, o que contribui para melhor aderência e, conseqüentemente, efetividade terapêutica.

Abre-se, portanto, a perspectiva de ampliação de estudos *in silico* que demonstrem mais profundamente as semelhanças estruturais entre compostos que têm as atividades identificadas e as moléculas da *X. americana* (modelos farmacofóricos)²⁰, e a realização de simulações com as conformações dos marcadores químicos e a estrutura do receptor-alvo biológico, a fim de esclarecer se há interação favorável entre tais moléculas e o sítio ligante²¹. Tais resultados podem ser utilizados, ainda, para traçar novos estudos *in vitro* e *in vivo*.



REFERÊNCIAS

1. Carneiro FM, José M, Albernaz LC, Darc J, Costa P. Tendências Dos Estudos Com Plantas Medicinais No Brasil. Rev Sapiência Soc saberes e práticas Educ. 2014;3(2):44–75.
2. Sarmento CG, Pinto VMJ, Santos KKB, Maniçoba BBP, Borges PM. Estudo bibliográfico sobre o uso das plantas medicinais e fitoterápicos no Brasil. Rev Verde Agroecol e Desenvol Sustentável. 2013;8(5):208–12.
3. Shaker B, Ahmad S, Lee J, Jung C, Na D. In silico methods and tools for drug discovery. Comput Biol Med. 2021;137(September):104851.
4. Silva GG da, Souza PA de, Moraes PLD de, Santos EC dos, Moura RD, Menezes JB. Caracterização do fruto de ameixa silvestre (*Ximenia americana* L.). Rev Bras Frutic. 2008 Jun;30(2):311–4.
5. Shettar AK, Sateesh MK, Kaliwal BB, Vedamurthy AB. In vitro antidiabetic activities and GC-MS phytochemical analysis of *Ximenia americana* extracts. South African J Bot. 2017;111:202–11.
6. Silva Filho RL da, Albuquerque L, Cavalcanti S, Tambascia M, Valente F, Bertoluci M. Tratamento farmacológico da hiperglicemia no DM2. In: Diretriz Oficial da Sociedade Brasileira de Diabetes [Internet]. Conectando Pessoas; 2022. Available from: <https://diretriz.diabetes.org.br/tratamento-farmacologico-da-hiperglicemia-no-dm2/>
7. I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica. Arq Bras Cardiol [Internet]. 2005 Apr;84:3–28.
8. Le NHT, Malterud KE, Diallo D, Paulsen BS, Nergård CS, Wangensteen H. Bioactive polyphenols in *Ximenia americana* and the traditional use among Malian healers. J Ethnopharmacol. 2012;139(3):858–62.
9. 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. 2017;7:1–13.
10. Filimonov DA, Lagunin AA, Gloriovova TA, Rudik A V., Druzhilovskii DS, Pogodin P V., et al. Prediction of the biological activity spectra of organic compounds using the pass online web resource. Chem Heterocycl Compd. 2014;50(3):444–57.
11. Banerjee P, Eckert AO, Schrey AK, Preissner R. ProTox-II: A webserver for the prediction of toxicity of chemicals. Nucleic Acids Res. 2018;46(W1):W257–63.
12. Liu T, Lin Y, Wen X, Jorissen RN, Gilson MK. BindingDB: A web-accessible database of experimentally determined protein-ligand binding affinities. Nucleic Acids Res. 2007;35(SUPPL. 1):198–201.
13. Schneidman-Duhovny D, Dror O, Inbar Y, Nussinov R, Wolfson HJ. Deterministic Pharmacophore Detection via Multiple Flexible Alignment of Drug-Like Molecules. J Comput Biol. 2008 Sep;15(7):737–54.
14. Schneidman-Duhovny D, Dror O, Inbar Y, Nussinov R, Wolfson HJ. PharmaGist: a webserver for ligand-based pharmacophore detection. Nucleic Acids Res. 2008;36(Web Server issue):223–8.



15. Westergaard N, Madsen P. Glucose-6-phosphatase inhibitors for the treatment of Type 2 diabetes. *Expert Opin Ther Pat*. 2001 Sep 25;11(9):1429–41.
16. Derosa G, Maffioli P. Mini-Special Issue paper Management of diabetic patients with hypoglycemic agents α -Glucosidase inhibitors and their use in clinical practice. *Arch Med Sci*. 2012;5:899–906.
17. Miller BF. Increase of Serum β -Glucuronidase Activity in Human Diabetes Mellitus. *JAMA J Am Med Assoc*. 1966 Jan 17;195(3):189.
18. Syngkli S, Das B. Purification and characterization of human glycerol 3-phosphate dehydrogenases (mitochondrial and cytosolic) by NAD⁺/NADH redox method. *Biochimie*. 2023 Jul.
19. Cobas R, Rodacki M, Giacaglia L, Calliari LEP, Noronha RM, Valerio C, et al. Diagnóstico do diabetes e rastreamento do diabetes tipo 2. In: *Diretriz Oficial da Sociedade Brasileira de Diabetes. Conectando Pessoas*; 2022.
20. Dror O, Shulman-Peleg A, Nussinov R, Wolfson H. Predicting Molecular Interactions in silico: I. A Guide to Pharmacophore Identification and its Applications to Drug Design. *Curr Med Chem*. 2004 Jan 1;11(1):71–90.
21. Hawkins PCD, Skillman AG, Nicholls A. Comparison of shape-matching and docking as virtual screening tools. *J Med Chem*. 2007;50(1):74–82.

Contato para correspondência:

Camila Moreira Caetano Vaz

E-mail:

vazcamila2@gmail.com

Conflito de interesse: Não

Financiamento: Recursos próprios

