

Espectro de bioatividade *in silico* dos compostos da espécie vegetal *Eschscholzia californica*

In silico bioactivity spectrum of the species' compounds vegetable *Eschscholzia californica*

Eduardo Chaves Ferreira Coelho¹

Ana Beatriz Ferro de Melo¹

Pedro Gabriel de Lima Carneiro Borges¹

Danilo Borges de Sousa¹

Gabriel Cerqueira Santos¹

Leonardo Luiz Borges²

Resumo

As plantas medicinais são usadas para fins terapêuticos desde os primórdios da humanidade, o que ao longo do tempo levou à descoberta científica de vários metabólitos que hoje fazem parte das possibilidades terapêuticas disponíveis. A *Eschscholzia Californica* é encontrada nas Américas e tem grande potencial de adaptação ao clima temperado e é conhecida popularmente como “papoula da califórnia”. O presente estudo teve como objetivo a análise bioquímica e funcional dos compostos majoritários da espécie *Eschscholzia Californica* por meio de ferramentas *in silico* que possibilitaram elucidar e concretizar os seus potenciais efeitos terapêuticos, já que a planta é utilizada como ansiolítico e sedativo na fitoterapia e medicina popular. Desse modo, através de pesquisas em artigos científicos, os compostos mais promissores da espécie foram catalogados e isolados com o intuito de estabelecer os compostos com maiores efeitos terapêuticos. A reticulina, a protopina e a N-Metillaurótetina (NMT) foram as substâncias que apresentaram bioatividade relacionada a mecanismos envolvidos na fisiopatologia da depressão. Através de plataformas e softwares de metodologias *in silico*, foram analisadas as possíveis interações e mecanismos de ação dessas substâncias no organismo humano. As substâncias apresentaram baixa toxicidade, permeabilidade com a barreira hematoencefálica e atividade na recaptação de serotonina em ligação ao transportador nas vias sinápticas. As análises computacionais mostraram que as ligações possibilitam uma inibição da recaptação de serotonina, que é a principal atividade realizada pelos medicamentos utilizados na terapêutica da depressão. Dessa forma, o estudo possibilitará, posteriormente, análises *in vitro* e *in vivo* com os referidos compostos de maneira a contribuir para a triagem de novos medicamentos com efeitos ansiolíticos e sedativos.

Palavras-Chave: Plantas Medicinais; Ansiolíticos; *Docking* Molecular; Antidepressivos.

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

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



Abstract

Medicinal plants have been used for therapeutic purposes since the dawn of humanity, which over time has led to the scientific discovery of several metabolites that are now part of the therapeutic possibilities available. *Eschscholzia Californica* is found in the Americas and has great potential for adapting to a temperate climate and is popularly known as the “California poppy”. The present study aimed at the biochemical and functional analysis of the major compounds of the *Eschscholzia Californica* species using *in silico* tools that made it possible to elucidate and implement their potential therapeutic effects, since the plant is used as an anxiolytic and sedative in phytotherapy and folk medicine. Thus, through research in scientific articles, the most promising compounds of the species were cataloged and isolated in order to establish the compounds with the greatest therapeutic effects. Reticulin, protopin and N- Methyllaurotetanine (NMT) were the substances that showed bioactivity related to the exchange involved in the pathophysiology of depression. Through platforms and software of *in silico* methodologies, the action of these substances in the human body was conducted as possible and controlled. The substances demonstrated low toxicity, permeability with the blood-brain barrier and activity in the reuptake of serotonin in connection with the transporter in the synaptic pathways. The computational analysis contemplated that the connections allow an attraction of serotonin reuptake, which is the main activity carried out by the drugs used in the therapy of depression. Thus, the study will later enable *in vitro* and *in vivo* analyzes with the referred compounds in order to contribute to the screening of new drugs with anxiolytic and sedative effects.

Keywords: Medicinal Plants; *Hypericum Perforatum*; *In Silico*.

INTRODUÇÃO

Ao longo da história, a natureza tornou-se o principal aliado dos seres humanos na sobrevivência e manutenção de sua espécie. Através de sua diversidade e extensão, puderam desenvolver todo o necessário para garantir abrigo, proteção e alimentação, ou seja, fatores essenciais para a vida naquela época e que persistem até a contemporaneidade. Em decorrência da descoberta e refinamento de novas técnicas através dos recursos naturais, as civilizações perceberam que agricultura, que até então era “limitada” a questões nutricionais, poderia ser utilizada como recurso medicinal¹.

Diante disso, as civilizações que tinham amplo domínio sobre agricultura e pecuária tornaram-se sinônimos de desenvolvimento e prosperidade, entre as quais se encontra a civilização egípcia que, desde 3500a.C., através dos inúmeros recursos oferecidos pelo rio Nilo, ficou conhecida como o berço da medicina, farmácia e perfumaria. Diante disso, estudiosos começaram a dedicar suas pesquisas no ramo como Herbs, que catalogou 125 plantas medicinais no Egito e, nessas regiões, originou um dos herbários mais antigos do mundo². Posteriormente, Hipócrates escreveu a obra “Corpus Hipocratium” na qual desenvolveu, além de informações médicas, indicou o tratamento a partir de vegetais para as diversas doenças conhecidas naquela época³.

A sociedade contemporânea, persiste no estudo e desenvolvimento de técnicas relacionadas ao estudo de plantas medicinais, contando com inúmeras tecnologias e bancos de dados que facilitam e refinam o estudo na área, entre as quais as ferramentas *in silico*, que consistem na aplicação de recursos computacionais no estudo de bioatividade de estruturas químicas. Por meio



delas, podemos evidenciar de forma mais detalhada e precisa os elementos químicos e estruturais e, conseqüentemente, sugerir seus possíveis mecanismos de ação e efeitos terapêuticos⁴.

Diante de um país que possui uma vasta extensão territorial e, em decorrência deste fato, possui uma elevada amplitude de climas, relevos, altitudes e incidência solar, é possível cultivar inúmeras espécies de plantas, ervas e árvores tanto a nível de subsistência quanto aos níveis comerciais, industriais e científicos. Devido a isso, a comunidade científica brasileira possui fácil acesso a espécies *in natura*, evitando custos de importação e burocracias para análises moleculares e estruturais⁵.

A espécie *Eschscholzia californica* (Família: Papaveraceae) também é conhecida como “papoula-da-california” e tem origem na América do Norte, mas pode ser cultivada em locais de clima ameno ou quente, trazendo uma maior possibilidade terapêutica em diferentes regiões e, inclusive, já sendo cultivada no Brasil⁶. Estudos constataram potenciais ansiolíticos e antidepressivos, por meio da ação dos alcalóides presentes na espécie que atuam como potencializadores dos agonistas GABA_A e como antagonista do receptor da serotonina, bloqueando os transportes de serotonina e noradrenalina⁷. Além do potencial ansiolítico e antidepressivo, também há evidências de apresentar efeitos analgésicos.

Conforme relatado pela Organização Mundial da Saúde (OMS), principalmente após a pandemia de COVID-19, houve um aumento nos casos de depressão e ansiedade. Os dados mostram que a prevalência global da depressão aumentou cerca de 25%. Além desse aumento exacerbado pós pandemia dos casos, já há estudos que relatam as mudanças nos circuitos psico-neuroendócrinos-imune durante a infecção pela doença em conjunto a síndrome respiratória, fazendo com que haja uma resposta hormonal e imunológica negativa com relação aos sintomas⁸.

Este estudo teve o objetivo de pesquisar o espectro de bioatividade dos compostos da *Eschscholzia californica*, empregando ferramentas *in silico*, sobretudo moléculas que apresentam potencial efeito central para depressão e ansiedade.

MÉTODOS

A seleção por compostos químicos da espécie *Eschscholzia californica* foi realizada através de uma revisão bibliográfica a partir de artigos científicos publicados na base de dados do PubMed, SciELO e ScienceDirect por meio dos termos *Eschscholzia californica*, *in silico*, medicine, depression e o operador booleano: AND. O artigo⁷ teve grande importância, já que fez uma análise estrutural da espécie, contendo várias estruturas químicas elucidadas e nos possibilitando avaliar a predição biológica dos seus compostos.



Os compostos majoritários da espécie, por sua vez, foram estudados com auxílio de métodos e ferramentas *in silico*. Após a identificação das estruturas, a codificação das moléculas foi obtida por meio do site PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>).

Em primeira análise das moléculas, utilizou-se o servidor PASS Prediction usado para avaliar quais moléculas teriam potencial atividade ansiolítica. A triagem farmacocinética foi realizada com o programa SwissADME (<http://www.swissadme.ch/>) e o servidor SwissTargetPrediction (<http://www.swisstargetprediction.ch/>) para avaliar potenciais alvos moleculares capazes de interagir com os marcadores químico da planta, o qual apontou uma relevância de interação com o transportador de serotonina (SERT) para inibir a recaptção de serotonina na fenda pós-sináptica. Em seguida, foi avaliado a predição da toxicidade através do Protox II⁹⁻¹¹.

Foi usado o programa GOLD Suite 5.7.0 (Mark Thompson and Planaria Software LLC), por fim, para avaliar as ligações e força de interação possíveis entre os compostos da *Eschscholzia californica* com o ligante alvo (transportador de serotonina) para, assim, observarmos se há uma interação efetiva para um possível uso terapêutico.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Primeiramente, vale destacar a importância da realização de uma predição farmacocinética dos compostos presentes na planta estudada para a possibilidade de uso em fármacos. Por meio dessa análise inicial, foram selecionados 14 compostos principais da *Eschscholzia californica* (protopine, escholtzine, Allocryptopine, californidine, Isoboldine, N-Methylaurotetanine, Corydine, Californidine, O- Methylcaryachine, Caryachine, 6S,12S-Neocaryachine-7-Omethyl ether N-metho salt, (S)-Reticuline, Chelerythrine, Sanguinarine). Com esses compostos foi possível avaliar suas principais ações, para assim fazer a triagem dos marcadores mais promissores para serem objetos de estudos em outros modelos, como *in vivo* e *in vitro*.

Os resultados gerados na Tabela 1 indicam a probabilidade da molécula ser semelhante a estruturas que tenham a função estimada (Pa) e a probabilidade de ter algum erro na predição da atividade biológica (PI). Com isso, foi possível avaliar os melhores compostos a serem observados em conjunto ao objetivo do estudo. Com relação a variável Pa é importante salientar que para que haja maior significância é necessário que seu valor seja maior que 0,700, devido a isso foram filtrados dos 14 compostos apenas os 7 que obtinham essa significância.

Tabela 1. Análise de Pa e Pi conforme as funções atribuídas aos compostos presentes na molécula pelo servidor PASS Prediction.

Compostos	Atividade Biológica	Pa	Pi
Protopina	Inibidor de captação de neurotransmissores	0,913	0,002
	Analéptico respiratório	0,806	0,008
	Antineurótica	0,763	0,024
	Relaxante Muscular	0,712	0,005
Escholtzia	Antineurótica	0,864	0,005
	Inibidor de captação de neurotransmissores	0,852	0,003
Allocryptopina	Estimulação da MAP quinase	0,889	0,002
	Antagonista do receptor de anafilatoxina	0,871	0,005
	Inibidor de captação de neurotransmissores	0,804	0,004
	Antineurótica	0,801	0,017
(S)-Reticulina	Agonista do receptor alfa-4-beta-4 nicotínico	0,842	0,0004
	Estimulante da liberação de 5-hidroxitriptamina	0,784	0,016
	Estimulação do MAP quinase	0,730	0,005
	Estimulante da liberação de histamina	0,721	0,004
N-Methyl Laurotetanina	Estimulante da liberação de 5-hidroxitriptamina	0,919	0,004
	Substrato da UGT1A9	0,815	0,004
	Estimulante da liberação de histamina	0,802	0,003
	Estimulante de liberação de hidroxitriptamina	0,941	0,004
Isoboldina	Antitussígeno	0,845	0,003
	Inibidor da Tirosina 3 Hidroxilase	0,823	0,002
	Substrato UGT1A9	0,814	0,004
	Estimulante de histamina	0,802	0,004
	Estimulante de liberação de hidroxitriptamina	0,951	0,003
Coridina	Antitussígeno	0,864	0,002
	Substrato UGT1A9	0,814	0,004
	Estimulante de MAP quinase	0,796	0,003

Legenda: Pa= Probabilidade do composto apresentar a atividade predita; Pi= probabilidade do composto não apresentar a atividade predita.



Após as análises, conforme a Tabela 1, foi possível selecionar as três principais moléculas (Protopina, reticulina e NMT) que atendem ao objetivo estudado e têm maiores probabilidades biológicas, considerando dados da plataforma SwissTargetPrediction com relação a absorção no trato gastrointestinal, permeabilidade a barreira hematoencefálica e critérios Lipinski, resultando nas três moléculas selecionadas com maiores pontos favoráveis ao estudo. Com isso, foi possível visualizar esses compostos na classificação *Druglikeness*, o que mostrou que todos estavam de acordo com os critérios, como mostra a Tabela 2.

Para esse resultado foi usado a regra dos 5 de Lipinski. Ela é utilizada para determinar características farmacocinéticas de compostos e possui o objetivo de avaliar a permeabilidade e solubilidade de fármacos administrados pela via oral. A regra é feita com base no LogP (miLogP) que deve ser maior ou igual a 5, a Massa Molecular (MW) menor ou igual a 500, o número de aceptores de ligação de Hidrogênio (nOHNH) menor ou igual a 10 e os doadores de ligação de Hidrogênio (nON) menor ou igual a 5¹². Quanto mais critérios a molécula seguir, maior a chance de ser ativada por via oral.

Tabela 2. Características farmacocinéticas previstas das moléculas selecionadas. LogP (miLogP), Massa Molecular (MM), o número de aceptores de ligação de Hidrogênio (nOHNH) menor ou igual a 10 e os doadores de ligação de Hidrogênio (nON).

Compostos	miLogP	MM	nON	nOHNH
Protopina	2.75	353.37	6	0
Escholtzine	3.22	323.35	5	0
Allocryptopina	2.70	369.42	6	0
(S)-Reticulina	2.38	329.40	5	2
N-Methylaurotetanina	2.77	341.41	5	1

A Tabela 3 apresenta as informações geradas pelo laboratório virtual de toxicidade (ProTox-II)¹³ e pelo Swiss Institute of Bioinformatics (SwissADME)¹⁴, onde é previsto a classificação relacionada à toxicidade. Também é avaliado, conforme a Tabela 4, se o composto tem permeabilidade na barreira hematoencefálica, a absorção no trato gastrointestinal e a dose letal de 50% que, dessa forma, classificam a classe toxicológica de cada composto.



Tabela 3. Perfil de toxicidade e valores de DL50 das estruturas selecionadas a partir da espécie *Eschscholzia californica*.

Composto	Classe de Toxicidade	DL50
Protopina	4	940mg/Kg
Escholtzina	4	1500mg/Kg
Allocryptopina	4	940mg/Kg
(S)-Reticulina	4	700mg/Kg
N-Methylaurotetanina	4	350mg/Kg

Tabela 4. Absorção no trato gastrointestinal (GI) e permeabilidade a barreira hematoencefálica (BHE) das moléculas selecionadas a partir da espécie *Eschscholzia californica*.

Composto	Lipinski	Absorção GI	Permeável à BHE
Protopina	Sim, 0 violação	Alta	Sim
Escoltzina	Sim, 0 violação	Alta	Sim
Alocryptopina	Sim, 0 violação	Alta	Sim
(S)-Reticulina	Sim, 0 violação	Alta	Sim
N-Metil Laurotetanina	Sim, 0 violação	Alta	Sim

Outro parâmetro avaliado nas moléculas promissoras da espécie *E.californica* foi o perfil de toxicidade, através do servidor ProTox-II, dados apresentados na Tabela 3. A plataforma indica 5 classificações de cada composto entre as quais: toxicidade aguda, que varia de 0 a 6, toxicidade de órgãos, parâmetros toxicológicos, as vias toxicológicas e as metas de toxicidade aguda. A característica escolhida neste estudo foi a toxicidade aguda, tendo em vista que o manejo dos quadros clínicos dos pacientes com depressão observados tem uma dificuldade nesta fase, resultando a efeitos adversos e piora na condição no início do tratamento com fármacos já estudados. A triagem da toxicidade aguda é efetuada a partir da similaridade química entre compostos com efeitos tóxicos conhecidos e na presença de fragmentos tóxicos. O grau da referida toxicidade é feito de forma quantitativa por meio do DL50, em mg/Kg do peso corporal. O DL50 corresponde à dose letal mediana, ou seja, a dose capaz de causar a morte de 50% dos indivíduos expostos ao composto. Portanto, o valor DL50 é inversamente proporcional à toxicidade do composto.



A permeabilidade da barreira hematoencefálica tem uma importância significativa nos mecanismos que envolvem o sistema nervoso central, por isso é válido observar a permeabilidade dos compostos da *Eschscholzia californica*. A barreira é uma estrutura que impede o fluxo de substâncias do sangue, como anticorpos, drogas terapêuticas, sistema complemento e fatores de coagulação, para o sistema nervoso central. Ela é formada por meio de células endoteliais presentes nos capilares sanguíneos. A passagem de substâncias na barreira se dá por duas grandes vias, a via paracelular que é caracterizada por uma passagem entre as junções celulares por diferença de concentração e a via transcelular que envolve difusão passiva ou facilitada de compostos, endocitose mediada por receptores, processos de transcitose e processos mediados por transportadores. Um exemplo de medicamento que transita por difusão facilitada na barreira hematoencefálica é o L- Dopa que tem como mediador o transportador de aminoácidos neutros tipo 1 (LAT-1) e que tem como objetivo nos tratamentos a melhora da doença de Parkinson.

Os principais mecanismos de influxo de fármacos para o sistema nervoso central envolvem transportadores de ânions orgânicos (OATPs), transportadores de cátions orgânicos (OCTs), transportadores de nucleosídeos (NT), transportadores de monocarboxilatos (MCTs) e sistemas de transporte de peptídeos.

No caso do transporte de ânions orgânicos destaca-se os OAT (transportadores de ânions orgânicos em humanos) e Oats (em roedores) que são mostrados com importantes papéis no transporte de metabólitos aniônicos de neurotransmissores como a epinefrina, a norepinefrina, a dopamina e a serotonina, principalmente o Oat-3, tendo importância significativa no tratamento da depressão. Nesse sentido, a tabela 3 composta pelos dados do SwissAdme, evidencia a permeabilidade dos compostos da *Eschscholzia Californica* na BHE. Esse dado corrobora para sua efetividade no tratamento da depressão, já que possibilita a ação terapêutica de bloqueio do receptor 5 - HT1A demonstrado no PassOnline que modula receptores de serotonina.

O transportador de serotonina está localizado na porção terminal do axônio e no corpo do neurônio. O transportador é codificado pelo gene SERT (5-HTT ou SLC6A4). Quando há a liberação de serotonina na fenda sináptica, esse transportador leva a serotonina até ao neurônio pré-sináptico, que é reconhecido como a recaptação de serotonina. Esse mecanismo é o principal mecanismo dos antidepressivos que inibem esse retorno, conhecidos como inibidores seletivos de recaptação de serotonina, fazendo com que a serotonina permaneça na fenda sináptica.

Estudos demonstraram que a variação genética no 5-HTTLPR apresenta diferenças de respostas ao tratamento com o citalopram, que é um inibidor seletivo de recaptação de serotonina. Corroborando para que seja ainda mais evidente a importância da descoberta de novas possibilidades de tratamentos, já que as respostas às terapêuticas variam a depender dos genes do paciente, sendo necessário considerar multifatores e possibilitando que plantas medicinais, como a *Escholtzia californica* tenham maior visibilidade.



Para que tenha maior evidência, é válido ressaltar também a importância da interação com citocromos, dado obtido pela análise na plataforma SwissADME para avaliar interações medicamentosas e possíveis metabolismos dos compostos.

É claro, para a comunidade científica, que cerca de 90% dos fármacos são metabolizados por 6 principais isoenzimas do citocromo P450 (CYP450): CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, CYP3A4 e CYP2E1. Sabendo que a maioria das substâncias são metabolizadas, primariamente, por essas enzimas, é possível evidenciar e explicar as interações medicamentosas envolvendo medicações tanto *in vivo* quanto *in vitro*¹⁵. Medicamentos que possuem atividade com a mesma família de enzimas do CYP450, quando administrados de forma simultânea, podem interagir entre si e prejudicar sua biodisponibilidade no organismo.

As características das interações dependem diretamente se o fármaco exerce atividade de substrato, indução e/ou inibição das referidas enzimas. As consequências decorrentes dessa interação podem ser: aumento da toxicidade da substância administrada ou a redução de sua efetividade no organismo. Um exemplo da relação em questão é o envolvimento da isoenzima CYP2D6 nas interações relevantes entre inibidores de recaptção de serotonina, como a fluoxetina e paroxetina (inibidores da CYP2D6) e antidepressivos tricíclicos¹⁶. Para o estudo dos compostos da *Eschscholzia Californica* e suas relações com os principais citocromos citados, foi utilizado o servidor SwissADME conforme a tabela 5. Com os dados obtidos, é possível concluir que, dos 3 compostos, os que provavelmente apresentarão menos interações medicamentosas são a (S)-reticulina e a N-Methylaurotetanina.

Tabela 5. Relação entre os compostos da planta *Eschscholzia californica* e os citocromos P450 potencialmente inibidos.

Composto	CYP1A2	CYP2C19	CYP2C9	CYP2D6	CYP3A4
Protopina	Inibidor	-	Inibidor	Inibidor	Inibidor
(S)-Reticulina	-	-	-	Inibidor	-
N-Methylaurotetanina	Inibidor	-	-	-	-

O Comitê dos medicamentos a base de plantas da agência europeia de medicamentos reconhece o uso do extrato das partes aéreas da *E. californica* no manejo do estresse mental e do sono baseado no seu uso popular e de longa data¹⁷. Com o intuito de estudar medidas terapêuticas para a insônia, um estudo foi realizado com o uso de extrato da espécie *E. californica* e Valeriana officinalis em pacientes com histórico de insônia. Durante a primeira e a quarta semana de

suplementação, os pacientes tiveram que relatar as seguintes características do sono em um diário eletrônico: latência do sono, duração total do sono, frequência e duração dos despertares noturnos.

Após um mês, os médicos tiveram que coletar informações sobre eventos adversos e tratamentos concomitantes. Ansiedade (escala HAM-A), intensidade da insônia, qualidade do sono e estado de vigília foram avaliados. No primeiro mês, foi evidenciada uma significativa diminuição da pontuação média da gravidade da insônia, alcançando cerca de 30%. Além disso, os pacientes relataram menor dificuldade para adormecer, para permanecer dormindo e seus distúrbios de sono interferem menos nas atividades diurnas e por fim, relataram que o sono noturno apresentou acréscimo de meia hora. Em relação aos despertares noturnos, eles apresentaram redução de cerca de 25% em relação à frequência e uma redução de 25 minutos em relação à duração. Já a ansiedade, avaliada pelo escore HAM-A teve redução de 50% nos pacientes, concluindo, dessa forma, que a suplementação com extrato das espécies *E. californica* e *V. officinalis* possuem potencial terapêutico para o tratamento de insônia e ansiedade¹⁷.

Através de um estudo *in vitro*, notou-se que o extrato etanólico a 70% de *E. californica* foi capaz de se ligar aos receptores 5-HT(1A) E 5-HT (7) a uma dose de 100 µg/ml¹⁸. Em meio as 3 moléculas selecionadas, todas apresentaram uma interação com receptor de serotonina 5-HT(1A) de acordo com o servidor SwissTarget Prediction. Essa estrutura é acoplada na proteína G e desempenha papel significativo na liberação de serotonina e na regulação do metabolismo da dopamina e 5-hidroxitriptamina no cérebro. Ele possui papel fundamental na modulação de diferentes vias no organismo, entre elas a cognitiva, comportamental, de desenvolvimento do sono, humor, depressão, ansiedade e agressividade, afeto, função sexual, termorregulação. Foi evidenciado em um estudo que camundongos sem a exibição do receptor de serotonina 1A desenvolveram aumento de transtornos de ansiedade e agressividade¹⁹. Estudos anteriores propuseram que os receptores 5-HT1A eram exclusivamente localizados no soma e nos dendritos (autorreceptores somato dendríticos dos neurônios 5-HT e em regiões pós sinápticos (fora do núcleo dorsal da rafe (NDR).

Estudos atuais evidenciaram que os receptores 5-HT1A também são expressos por células não 5-HT do NDR. Boa parte dessas células são interneurônios gabaérgicos. O receptor 5-HT1A se acopla a Gi/o com ativação Gi desencadeando a inibição da adenilato ciclase. Essa enzima é responsável por sintetizar o monofosfato cíclico de adenosina (cAMP) para a produção de adenosina trifosfato (ATP). O cAMP, por sua vez, ativa a proteína quinase dependente de cAMP, também denominada de proteína quinase A (PKA). A PKA fosforila proteínas quinases intermediárias (PKs) que interferem na atividade de canais iônicos, causando despolarização do neurônio. Por bloquear a adenilato ciclase, os receptores 5-HT1A causam hiperpolarização neuronal. A estimulação da estrutura inibe a taxa de disparo de neurônios serotoninérgicos. Já a ativação do receptor pós-sinápticos induz respostas inibitórias em regiões alvo. Os referidos receptores são encontrados no



telencéfalo (córtex cerebral, sistema límbico, hipocampo e amígdala), diencéfalo, mesencéfalo e rombencéfalo²⁰.

Um estudo feito com camundongos indicou que o extrato aquoso da *E. californica* apresentou ter potencial sedativo e ansiolítico. Nele, concluiu-se que a planta reduziu significativamente a preferência por novidades, assim como a locomoção e a atividade de criação em doses acima de 100mg/Kg em situação exploratória de livre escolha dos animais durante o teste de acordo com a concentração do extrato. Além disso, a atividade sedativa foi confirmada pela indução do sono em camundongos em doses acima de 100mg/Kg após uma dose infra-hipnótica de pentobarbital²¹. Ao serem colocados no teste da escada, no referido estudo, sob efeito de 25mg/Kg de *E. californica*, os camundongos apresentaram redução da atividade locomotora (diminuição do número de degraus percorridos por tempo), comportamento semelhantes aos observados por outros autores utilizando benzodiazepínicos ou valproato em ratos²² e em camundongos²³. Sabe-se que muitas substâncias sedativas entre as quais benzodiazepínicos e fenobarbital possuem atividades ansiolíticas quando administradas em baixas doses. Quando camundongos foram submetidos ao teste de livre escolha com uma dose de 25mg/Kg, apresentaram um aumento do tempo gasto durante o teste, algo que também foi evidenciado em camundongos sob efeito de benzodiazepínico, clorazepato dipotássico e etanol em doses não sedativas²⁴. Em concordância com um trabalho envolvendo extrato da *E. californica* (200mg/Kg) e ratos elucidou uma redução significativa da atividade locomotora dos animais (64% em relação ao grupo controle) e de criação (65%).

Os referidos efeitos sedativos foram antagonizados de forma parcial por 10mg/Kg de flumazenil (24% e 33% respectivamente). Efeitos semelhantes ao uso do extrato da espécie foram obtidos com midazolam 2 mg/Kg, também reduzindo a atividade locomotora (-83%) e a criação (-91%). O flumazenil também antagonizou esses efeitos (-2% e -39%, respectivamente). Já no teste da caixa iluminada, *E. californica* (25 mg/Kg) aumentou de forma significativa o tempo gasto pelos ratos. Esses efeitos ansiolíticos foram antagonizados pelo flumazenil 1 mg/Kg. Efeitos similares foram obtidos com a administração de clorazepato dipotássico na dose de 2mg/Kg, também antagonizado pelo flumazenil²⁵.

Foi evidenciado que a N-metilaurotetanina (NMT) atua como antagonista da serotonina. A protopina e a alocriptopina bloqueiam a serotonina humana e transportadores de noradrenalina (hSERT E NERT) e possuem efeitos antidepressivos em modelos animais⁷. Um estudo experimental de radiotelemetria em camundongos alimentados com uma fração enriquecida com NMT (82% NMT, 10% reticulina e 8% de cariaquina com outros alcaloides menores evidenciou efeitos sedativos de curta duração quando administrados em dose de 10 mg/Kg entre 30 a 54 min após administração por via oral. (trabalho de V. Butterweck, J. Wedler, Universidade da Flórida, Gainesville). Além disso, a (S) -Reticulina pode ser transformada por células de neuroblastoma em

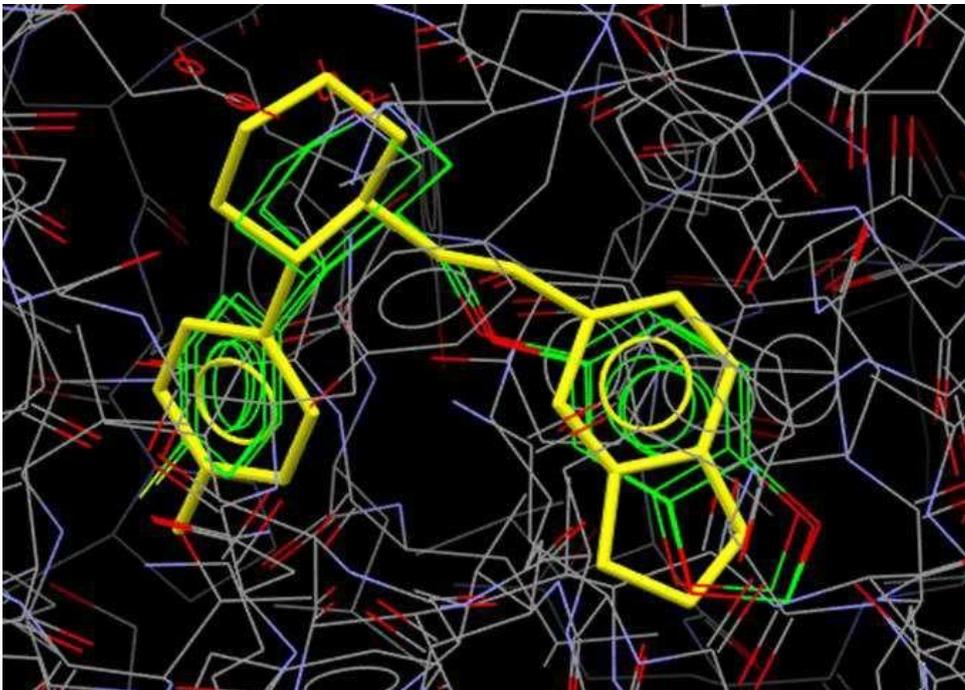


morfina, que é conhecida por interagir com receptores μ -opioides. Os ensaios referidos, contudo, relataram que não há modulação positiva de correntes de cloreto decorrentes da (S)-reticulina nos receptores GABA alfa1beta2gama3 recombinantes, que corresponde à principal isoforma capaz de mediar efeito sedativo no cérebro. Diante disso, percebeu-se que a (S)-reticulina é metabolizada pela 1,2 desidroreticulina e gera compostos entre os quais: (R)-reticulina e alcaloides intermediários como a codeína e a morfina. Pelo fato da metabolização da (S)-reticulina ser capaz de se ligar com receptores μ -opioides, ela poderia, por sua vez, mediar a liberação de GABA nos terminais das células inibitórias e, conseqüentemente ser responsável pelos efeitos sedativos observados no estudo⁷.

Dessa forma, foi realizada uma pesquisa no Banco de Dados de Proteínas (do inglês, Protein Data Bank - PDB). O PDB é um banco que armazena dados de proteínas e ácidos nucléicos tridimensionais cristalografados, através da difração de raios X. A análise do docking tem como objetivo observar a proteína alvo, que no caso é o transportador de serotonina (5-HTT), complexado a ligante.

Para realizar as simulações de *docking* molecular de ligantes com a estrutura 3 da proteína alvo foi utilizado o programa GOLD Suite 5.7.0 (Mark Thompson and Planaria Software LLC). Primeiramente, fez-se o *redocking* para verificar se o protocolo de *docking* é capaz de recuperar as coordenadas atômicas da estrutura cristalográfica do receptor 5-HTT com a paroxetina. Essa simulação gerou possíveis posições com os ligantes, as quais são nomeadas poses, que possibilitam avaliar a energia da ligação.

Figura 1. 3 melhores poses no redocking do ligante co-cristalizado do o alvo 5l6X com valores inferiores a 1Å.



Root-mean square deviation (RMSD) é a distância entre a posição cristalográfica e a posição obtida computacionalmente, que é medida em Angstroms(A). Quando se tem valores menores que 2 Å é possível indicar uma sobreposição com grande proximidade. Os valores das 3 poses de referência RMSD para o redocking dos compostos da *Eschscholzia californica* foram menores que 1, logo, é possível verificar elevado grau de concordância entre o modelo empregado e a posição do ligante cristalografado.

Dessa forma, o modelo utilizado no redocking foi utilizado para avaliar os potenciais de interação das substâncias protopina, (S)-reticulina e NMT (N- methyltryptamina) com o alvo molecular 5I6X. Sabe-se que as ligações intermoleculares se dão por meio de interações dipolo-dipolo induzido, dipolo permanente, ligações iônicas e covalentes. Entre as forças dipolo-dipolo permanente encontram-se as ligações de hidrogênio, já nas dipolo-dipolo induzido estão as forças de Van Der Waals. O docking molecular demonstrou que as 3 substâncias escolhidas fazem interações com o transportador de serotonina humano.

A protopina interage com os aminoácidos: PHE335, ARG104 e TYR175 do receptor de serotonina através de ligações de empilhamento π , ligação que consolida a posição da molécula no sítio ativo e de hidrogênio, ligação forte que ajuda a ancorar a molécula no referido espaço. Já a (S)-reticulina promove ligações com os resíduos TRP103, PHE335 por meio de ligações de hidrogênio e empilhamento π , respectivamente. Por fim, a N- methyltryptamina se liga aos aminoácidos THR 497, PHE335 e LLE172 mediante ligações de hidrogênio, empilhamento π e hidrofóbicas, respectivamente.

Figura 2. Representação bidimensional do potencial de interação da protopina e do sítio ativo do transportador de serotonina.

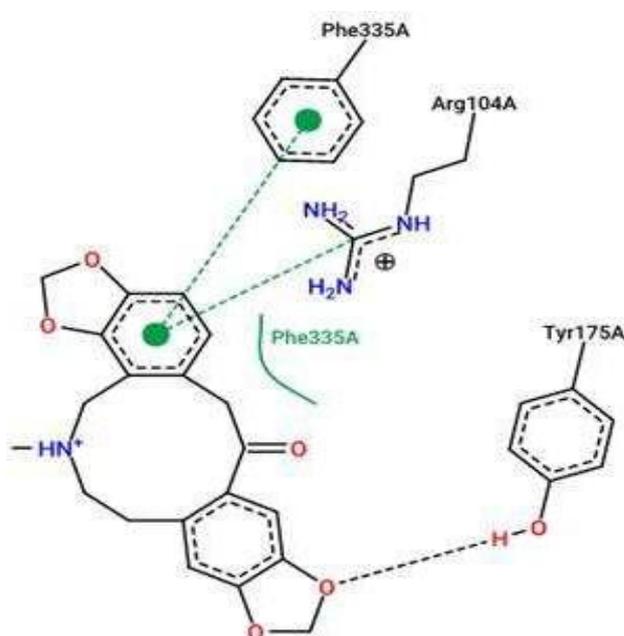


Figura 3. Representação bidimensional do potencial de interação da reticulina e do sítio ativo do transportador de serotonina.

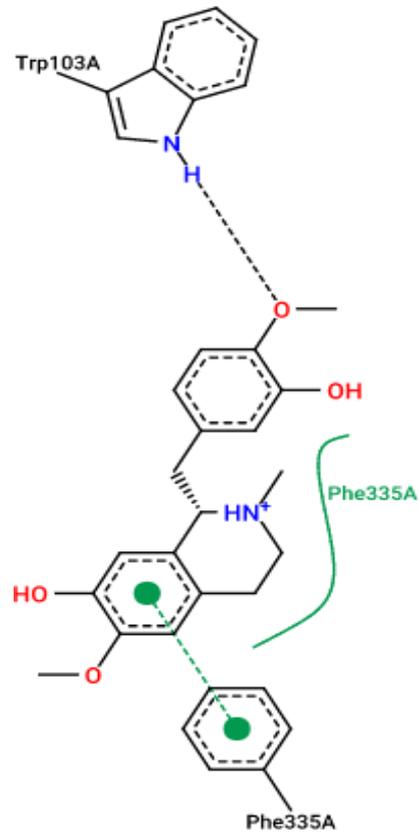
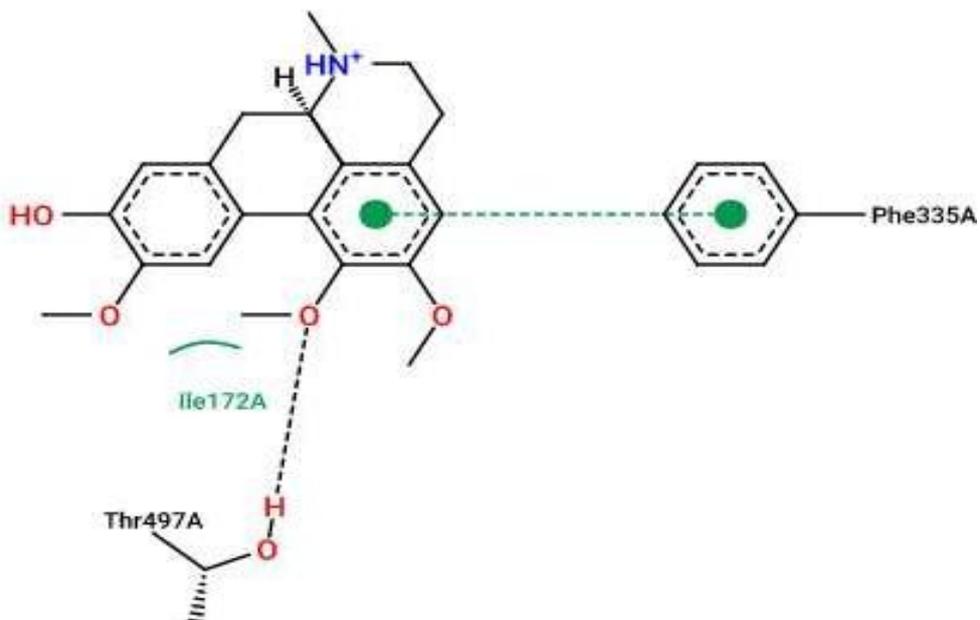


Figura 4. Representação bidimensional do potencial de interação do NMT e do sítio ativo do transportador de serotonina.



CONCLUSÃO

As substâncias reticulina, protopina e NTM, extraídas da planta *Eschscholzia Californica*, apresentaram bons resultados no estudo *in silico*. Apesar de já existir estudos que a mostram com potenciais antidepressivos, ainda é muito pouco elucidado seus mecanismos efetivos nessa terapia. Por meio de uma observação e comparação a outros trabalhos foi possível perceber que fatores como a permeabilidade a barreira hematoencefálica (BHE) e, conseqüentemente, a inibição de recaptação de serotonina são os principais mecanismos envolvidos no potencial terapêutico desta planta.

Considerando a influência genética no sucesso terapêutico relacionado ao receptor de serotonina, foi, também, evidenciado nesse estudo a capacidade da *Eschscholzia Californica* de aumentar o transporte de serotonina por meio de seus transportadores, possibilitando, além de uma menor recaptação pelos receptores, também uma maior concentração na fenda pós sináptica. Além do potencial terapêutico evidenciado pelas ligações, na comparação com a paroxetina e o transportador de serotonina e a passagem pela BHE vale ressaltar também a importância da busca de terapias sem efeitos colaterais, já que os antidepressivos são caracterizados por ter variados em diferentes classes.

Estudos que compararam o tratamento com o uso da planta e dos medicamentos evidenciaram menos efeitos com o uso da planta. Logo, há também esse benefício terapêutico no uso dos compostos, possibilitando ser objeto de estudo *in vitro* e *in vivo* a fim de ser empregado nos protocolos clínicos para tratar a depressão.

REFERÊNCIAS

1. Rodrigues TA, Leandro Neto J, Carvalho TAR, Barbosa ME, Guedes JC, Carvalho AVA valorização das plantas medicinais como alternativa à saúde: um estudo etnobotânico. Rev Ibero-Americana Ciências Ambient. 2020;11(1):411–28.
2. Santos MRA, Lima MR, Ferreira MGR. Uso de plantas medicinais pela população de Ariquemes, em Rondônia. Horti Bras. 2008;26(2):244–50.
3. Braga CM. Histórico da utilização de plantas medicinais. 2011;24. Available at: https://bdm.unb.br/bitstream/10483/1856/1/2011_CarladeMoraisBraga.pdf
4. Zeni ALB, Parisotto AV, Mattos G, Helena ETS. Utilização de plantas medicinais como remédio caseiro na Atenção Primária em Blumenau, Santa Catarina, Brasil. Cien Saude Colet. 2017;22(8):2703–12.
5. Fernandes TM. Plantas medicinais: memória da ciência no Brasil. Plantas medicinais: memória da ciência no Brasil. 2003.



6. Still SM, Potter D. California Poppy Conundrums: Insights into Relationships within Tribe Eschscholtzieae (Papaveraceae). *Syst Bot.* 2013;38(1):104–17.
7. Fedurco M, Gregorová J, Šebrlová K, Kantorová J, Peš O, Baur R, et al. Modulatory Effects of *Eschscholzia californica* Alkaloids on Recombinant GABA A Receptors. *Biochem Res Int.* 2015;2015:1–9.
8. Brasil LS, Rayol ME, Siqueira MCC. Covid-19: impacto na saúde mental da população em tempos de pandemia, uma revisão integrativa. *Res Soc Dev.* 2021;10(16):e260101623988.
9. Sadym A, Lagunin A, Filimonov D, Poroikov V. Prediction of Biological Activity Spectra via The Internet. *SAR QSAR Environ Res.* 2003;14(5–6):339–47.
10. 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):42717.
11. Gfeller D, Grosdidier A, Wirth M, Daina A, Michielin O, Zoete V. SwissTargetPrediction: a web server for target prediction of bioactive small molecules. *Nucleic Acids Res.* 2014;42(W1):W32–8.
12. Lipinski CA. Drug-like properties and the causes of poor solubility and poor permeability. *J Pharmacol Toxicol Methods.* 2000;44(1):235–49.
13. 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.
14. 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):42717.
15. Bibi Z. Role of cytochrome P450 in drug interactions. *Nutr Metab (Lond).* 2008;5(1):27.
16. Braz C de L, Figueiredo TP de, Barroso SCC, Reis AMM. Drugs with activity on the cytochrome P450 used by elderly at home. *Rev Médica Minas Gerais.* 2018;28.
17. Abdellah SA, Berlin A, Blondeau C, Guinobert I, Guilbot A, Beck M, et al. A combination of *Eschscholtzia californica* Cham. and *Valeriana officinalis* L. extracts for adjustment insomnia: A prospective observational study. *J Tradit Complement Med.* 2020;10(2):116–23.
18. Al-Snafi AE. Medicinal Plants Alkaloids, As a Promising Therapeutics-A Review (Part 1). *IOSR J Pharm.* 2021;11(2):51–67.
19. Gardner KL, Hale MW, Oldfield S, Lightman SL, Plotsky PM, Lowry CA. Adverse experience during early life and adulthood interact to elevate tph2 mRNA expression in serotonergic neurons within the dorsal raphe nucleus. *Neuroscience.* 2009;163(4):991–1001.
20. Polter AM, Li X. 5-HT1A receptor-regulated signal transduction pathways in brain. *Cell Signal.* 2010;22(10):1406–12.
21. Rolland A, Fleurentin J, Lanhers M-C, Younos C, Misslin R, Mortier F, et al. Behavioural Effects of the American Traditional Plant *Eschscholzia californica* : Sedative and Anxiolytic Properties. *Planta Med.* 1991;57(03):212–6.
22. Thiebot MH, Soubrie P, Simon P, et al. Dissociation de deux composantes du comportement chez le rat sous l'effet de psychotropes. *Psychopharmacologia.* 1973;31(1):77-90.



23. Simiand J, Keane PE, Morre M. The staircase test in mice: A simple and efficient procedure for primary screening of anxiolytic agents. *Psychopharmacology (Berl)*. 1984;84(1):48–53.
24. Belzung C, Misslin R, Vogel E. The benzodiazepine receptor inverse agonists β -CCM and RO 15–3505 both reverse the anxiolytic effects of ethanol in mice. *Life Sci*. 1988;42(18):1765–72.
25. Rolland A, Fleurentin J, Lanhers MC, Misslin R, Mortier F. Neurophysiological Effects of an Extract of *Eschscholzia californica* Cham.?(Papaveraceae). *Phyther Res*. 2001;15(5):377–81.

Contato para correspondência:

Eduardo Chaves Ferreira Coelho

E-mail:

eduardocoe@gmail.com

Conflito de interesse: Não

Financiamento: Recursos Próprios

