Faculdades Integradas de Patos
Curso de Medicina
v. 6, 2021, p. 342-351
ISSN: 2448-1394

Journal of Medicine and Health Promotion

ANÁLISE FARMACOLÓGICA *IN SILICO* DA BUTEÍNA PARA DESENVOLVIMENTO DE INSUMOS FARMACÊUTICOS ATIVOS

IN SILICO PHARMACOLOGICAL ANALYSIS OF BUTEIN FOR DEVELOPMENT OF ACTIVE PHARMACEUTICAL INGREDIENTS

Samira Pauluk Alarcon
Instituto Federal do Paraná – IFPR – Pitanga - Paraná- Brasil
samirapaulukalarcon@gmail.com

Maicon Rogério de Souza
Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR – Londrina - Paraná- Brasil
maicon.souza@ifpr.edu.br

Daniel Rotella Cocco
Instituto Federal do Paraná – IFPR – Pitanga - Paraná- Brasil
daniel.cocco@ifpr.edu.br

Vitória Rezende Kurita
Instituto Federal do Paraná – IFPR – Pitanga - Paraná- Brasil
vitoriarezendekurita@gmail.com

RESUMO
Objetivo: Realizar o estudo *in silico* da buteína através de *softwares* gratuitos para desenvolvimento de Insumos Farmacêuticos Ativos (IFA).
Métodos: Primeiramente, foi realizado um estudo acerca de chalconas na base de dados NuBBE – Núcleo de Bioensaios, Biossintese e Ecofisiologia de Produtos Naturais. Do total de 35 moléculas catalogadas, 18 não possuíam propriedades biológicas associadas, optando-se então para um estudo avançado da buteína. Com o *software Pass Online*, foram avaliados os potenciais biológicos do composto. Utilizando o *software Molinspiration* foi analisada a sua biodisponibilidade oral seguindo os parâmetros da Regra dos Cinco de Lipinski. Com a ferramenta *AdmetSAR* foram previstas suas propriedades ADMET e toxicidade. Por fim, com o *software Marvin Sketch* foi calculado o pKa e simulada a absorção do composto pelo organismo humano.
Resultados: De acordo com os resultados obtidos através do *software Pass Online*, a buteína apresenta potenciais propriedades biológicas, destacando-se a atividade antineoplásica e indutor de apoptose em células cancerígenas. Os resultados obtidos indicam que o composto não viola os parâmetros da Regra dos Cinco de Lipinski, possuindo boa biodisponibilidade oral. Verificou-se, a partir do cálculo do pK_a que a absorção do composto deverá ocorrer no intestino. A partir dos testes com a ferramenta *AdmetSAR* verificou-se que a buteína se enquadra na Categoria III de Toxicidade Oral Aguda, não apresenta toxicidade e não possui agentes carcinogênicos.
Conclusões: O composto apresenta propriedades biológicas ainda pouco estudadas, possuindo resultados positivos em suas previsões farmacológicas e toxicológicas o que o tornam um candidato para o desenvolvimento de novos insumos farmacêuticos.

Palavras-Chave: Buteína. Chalconas. Indústria farmacêutica. Análise *in silico.*

ABSTRACT
Objective: Perform an *in silico* analysis of butein through free softwares for the development of active pharmaceutical ingredients.
Methods: Firstly, it was performed a study of available chalcones in the database NuBBE – Nucleus of Bioassays, Biosynthesis and Ecophysiology of Natural Products. It was verified that of the total of 35 molecules cataloged, 18 did not possess associated biological properties, therefore opting for a deep study of butein. With the software *Pass Online*, the biological potencials of the compound were evaluated. Using the software *Molinspiration* it was analysed the oral biodisponibility of the compound following the parameters of the Rule of Five by Lipinski. With the tool AdmetSAR, it was predicted its ADMET properties and toxicity. Finally, with the software *Marvin Sketch*, the pKa was calculated and the human body absorption was simulated.
Results: Accordingly with the results obtained with the software *Pass online*, butein has potencial biological properties, standing out its antineoplasic activity and inductor of carcinogenic cells apoptosis. The results obtained indicate that the compound does not violate the Rule of Five parameters, indicating a good oral biodisponibility. It was verified, by the pK_a calculation, that the compound absorption should occur in the intestin. The results of tests with the tool AdmetSAR shows that butein is classified in Category III of Acute Oral Toxicity, do not present toxicity and is considered non-cancerous.
Conclusions: The compound shows a considerable number of biological properties and positive pharmacological e toxicological predictions, being of possible importance to the development of active pharmaceutical ingredients.

Keywords: Butein. Chalcones. Pharmaceutical industry. *In silico* analysis.

1. Introdução

A indústria farmacêutica é uma área do mercado mundial com intensos investimentos no desenvolvimento de novos insumos farmacêuticos ativos (IFA)[1]. Segundo a Farmacopeia Brasileira, insumos farmacêuticos ativos são substâncias químicas, fármacos, drogas ou matérias-primas que tenham propriedades farmacológicas com finalidade medicamentosa utilizada para diagnóstico, alívio ou tratamento, empregados em benefício da pessoa na qual se administra[2].

Os maiores investimentos da área farmacêutica se situam no processo de Pesquisa e Desenvolvimento (P&D). O processo de P&D, essencial para a indústria, engloba desde o descobrimento de novos compostos a serem utilizados, à possível modelagem molecular para intensificar os efeitos desejados, até o desenvolvimento do insumo farmacêutico em si. É um processo permeado por altos custos, pesquisas que consomem tempo e alta susceptibilidade a falhas. Estima-se que no ano de 2018, o investimento em P&D foi de aproximadamente US$ 172 bilhões[3].

Os testes de novos insumos farmacêuticos duram, em média, de 10 à 15 anos. Aponta-se que entre 5 a 10 mil compostos são rejeitados a cada escolhido. A baixa velocidade de desenvolvimento do processo deve-se à garantia de segurança do produto final. Os custos totais para apenas um composto estudado podem exceder US$ 2.6

bilhões[4].

Neste contexto, apresenta-se a importância da Química Medicinal, uma área diversificada que engloba conhecimentos de áreas como Biologia, Informática, Farmacologia, Medicina, Físico-Química, Biologia Molecular, entre outras. A Química Medicinal estuda principalmente a biodisponibilidade, efeitos toxicológicos e a preparação de bioativos de compostos aptos a se tornarem insumos farmacêuticos[5].

A abordagem *in silico* permite realizar os testes necessários referentes à toxicidade, a propriedades químicas e biológicas das moléculas estudadas de forma digital, através de softwares e ferramentas *online*, a partir de sua estrutura molecular. Os resultados da análise *in silico* baseiam-se em dados existentes na literatura e na relação entre estrutura e propriedades. É um método que oferece muitas vantagens, como o fornecimento de informações rápidas e exatas e ser de fácil reprodutibilidade[6].

Em cenários críticos, como a pandemia de COVID-19, revela-se a importância de estudos que apresentem resultados rápidos e com exatidão. Trabalhos já existentes na literatura mostram o relevante papel que o estudo *in silico* tem na descoberta de novos candidatos a vacinas[7].

Chalconas são flavonoides de cadeia aberta, de origem sintética e também de forma natural em plantas leguminosas, raízes, frutos e folhas. Sua estrutura molecular geral apresenta dois anéis benzênicos ligados por uma cadeia de três carbonos, as variações que ocorrem em diferentes estruturas presentes na molécula são responsáveis pelo grande número de propriedades biológicas importantes. As principais propriedades biológicas encontradas em chalconas e seus derivados são ação antifúngica, antibacteriana, anti-inflamatória, antioxidante e antineoplásica, sendo amplamente utilizadas pela indústria farmacêutica[8].

Neoplasias são crescimentos anormais do número de células de determinado tecido do corpo humano, podendo ser benignas ou malignas. Neoplasias malignas, também chamadas de câncer, diferem de neoplasias benignas por terem um crescimento desordenado e podendo invadir tecidos vizinhos. Segundo o Instituto Nacional do Câncer (INCA), o câncer é o principal problema de saúde pública do mundo, sendo responsável por 9,6 milhões de óbitos em 2018. No Brasil, estima-se que ocorra 625 mil novos casos nos próximos dois anos[9]. A possível propriedade antineoplásica da buteína associado ao elevado número de casos de câncer justitificam a importância de seu estudo aprofundado.

2. Métodos

Os testes *in silico* da buteína foram realizados pelos integrantes do Grupo de Pesquisa Interdisciplinar Aplicada a Agroindústria (GIPPA) no Laboratório de Química

Geral do Instituto Federal do Paraná – Campus Pitanga. Foram utilizados *softwares* gratuitos e um notebook com Sistema Operacional Linux, processador Intel Celeron N4000 Dual Core, 4,00 Gb de RAM e placa de vídeo Integrada Intel® UHD Graphics 600.

Nesse estudo, foi empregada a metodologia apresentada por Cocco *et al*[1]. Primeiramente, realizou-se uma pesquisa na base de dados Núcleo de Bioensaios, Biossintese e Ecofisiologia Natural - NuBBE, desenvolvida pela Universidade Estadual Paulista (UNESP). A base de dados possui informações sobre compostos bioativos, sua estrutura química e propriedades biológicas e farmacocinéticas[10].

Em seguida foi feita a previsão dos efeitos farmacológicos da buteína através do *software Pass Online*. Esse *software* faz a predição dos efeitos biológicos, efeitos adversos e a interação com enzimas metabólicas utilizando os índices P_a (probabilidade de ser ativo) e P_i (probabilidade de ser inativo), variando em uma escala de 0 a 1, quanto mais próximo de 1 maior a probabilidade do efeito ser ativo ou inativo. Para a previsão é necessário apenas a fórmula estrutural do composto com precisão dos resultados de, em média, 95%[11].

Com o *software Molinspiration Cheminformatics*[12] foi realizada a predição de biodisponibilidade oral do composto de acordo com os parâmetros da Regra dos Cinco de Lipinski. As regras são um conjunto de parâmetros criados para auxiliar na verificação do potencial de absorção de uma molécula pelo organismo humano. Para que o composto possua boa biodisponibilidade são analisados cinco fatores: o número de doadores de ligações de hidrogênio (nDLH), a massa molecular (MM), o número de aceptores de ligações de hidrogênio (nALH), coeficiente de partição octanol-água (miLogP) e a área de superfície polar (TPSA). De forma geral, espera-se uma boa absorção de moléculas que possuam nDLH ≤ 5, MM ≤ 500 $g.mol^{-1}$, nALH ≤ 10, miLogP ≤ 5 e TPSA ≤ 140 $Å^2$. É necessário que candidatos a novos IFA estejam enquadrados em ao menos quatro dos cinco parâmetros[13].

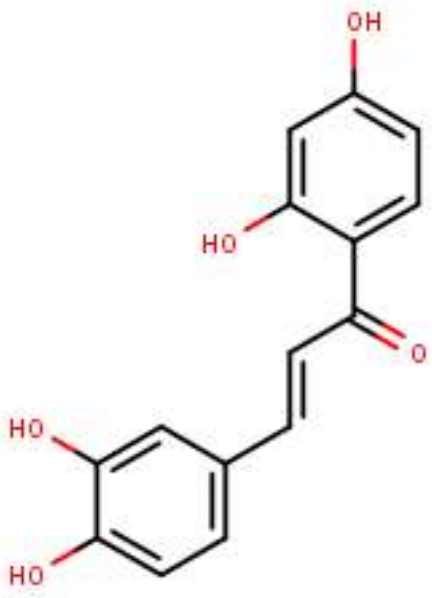
Utilizando a ferramenta *AdmetSAR*, foram avaliadas as propriedades de absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade (ADMET) da buteína. O *software* possui mais de 200.000 informações ADMET e faz a previsão das propriedades dos compostos através da similaridade com outras moléculas[14]. Por fim, foi utilizado o *software Marvin Sketch*[15] para determinação do pK_a do composto e verificar sua absorção no organismo humano.

3. Resultados e Discussão

A buteína é um composto pertencente a classe das chalconas, fenóis de ocorrência natural. A nomenclatura da buteína, de acordo com a IUPAC, é (2*E*)-1-(2,4-dihidroxifenil)-3-(3,4-dihidroxifenil)prop-2-en-1-ona, sua fórmula molecular $C_{15}H_{12}O_5$, SMILES C1=CC(=C(C=C1C=CC(=O)C2=C(C=C(C=C2)O)O)O)O e CAS 487-52-5. As

informações anteriores foram retiradas da base de dados PubChem[16]. A figura 1 foi gerada a partir do *software Marvin Sketch*, apresentando a estrutura bidimensional da buteína.

Figura 1 – Estrutura bidimensional da buteína



Fonte: *Marvin Sketch*[15] (2020)

De acordo com a pesquisa realizada na base de dados NuBBE[10] a buteína apresenta propriedades que indicam potencial para uso na indústria farmacêutica. A análise inicial realizada com o *software Pass Online* indicou 574 possíveis propriedades biológicas relacionadas ao composto com probabilidade de atividade maiores do que 30%. Entre as propriedades previstas destacam-se a atividade antineoplásica, indução de apoptose celular e combate a diversas doenças crônicas, apresentando alta probabilidade de atividade[17].

Devido à diversidade de propriedades biológicas da buteína[18,19], ela é utilizada no tratamento de doenças inflamatórias, aterosclerose, problemas hepáticos, úlceras, gota, doenças dos olhos, reumatismo, demência, tosse e diferentes tipos de câncer[20]. Esse composto inibe o crescimento de células cancerosas causando o bloqueio da fase G2/M e a apoptose[21].

A tabela a seguir apresenta os resultados obtidos com o *software Molinspiration* para os parâmetros analisados pela Regra dos Cinco de Lipinski[22] e os valores de referência.

Tabela 1 – Resultado de testes com o *software Molinspiration*

Parâmetro	Referência	Valor obtido
miLogP	≤5	2,28
TPSA	≤140 Å^2	97,98
MM	≤500g/mol	272,26
nALH	≤10	5
nDLH	≤5	4
nrotb	<10	3

miLogP – coeficiente de partição octanol/água; TPSA – área superficial polar topológica; MM – Massa Molecular; nDLH – número de grupos doadores de ligação de hidrogênio; nALH – número de grupos aceptores de ligação de hidrogênio; nrotb – número de bandas rotáveis.

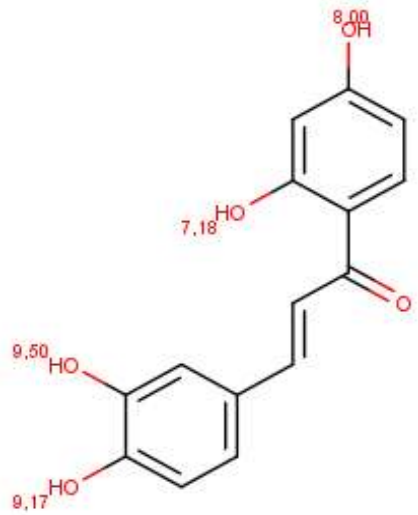
Fonte: Autoria própria (2020)

Também foi analisado o Parâmetro de Veber que diz que o número de ligações rotáveis do composto deve ser inferior a 10 (nrtob <10). Esse parâmetro está associado com a flexibilidade de molécula e essa é uma importante característica a ser analisada na determinação da biodisponibilidade de um composto[13]. Os dados obtidos mostram que a buteína não viola nenhum parâmetro da Regra dos Cinco de Lipinski e nem o Parâmetro de Veber indicando que o composto possui boa biodisponibilidade oral.

Utilizando o valor da TPSA do composto foi possível estimar o percentual de absorção teórica oral (%ABS) através da equação: %ABS= 109 – (0,345 X TPSA)[23]. O resultado obtido foi de 75,2% ratificando a interpretação proposta a partir da Regra do Cinco de Lipinski.

O *software* Marvin Sketch foi utilizado para determinação o pK_a da buteína a 298 K. O resultado obtido é apresentado na Figura 2.

FIGURA 2 – Valores do pK_a da buteína a 298 K.



Fonte: Marvin Sketch (2020)[15]

Analisando os valores de pK_a para cada hidrogênio ácido do composto pode-se estimar a região de absorção no organismo humano. Para que ocorra a absorção pelas bicamadas das membranas, o composto precisa estar majoritariamente na sua forma não ionizada. Os dois compartimentos mais comuns para absorção de fármacos são o estômago e a intestino delgado. O estômago apresenta pH ácido favorecendo a absorção de compostos com pK_a baixos (inferiores a 7). Já o intestino apresenta pH alcalino, favorecendo a absorção de moléculas com pK_a mais elevados (superiores a 7)[24].

A partir da análise do pk_a da buteína verificou-se que a absorção do composto deverá ocorrer no intestino. Esse resultado corrobora a previsão realizada através do *software* ADMETSAR que estimou a probabilidade de absorção do composto pelo intestino humano em 0,97 numa escala até 1,00.

A Tabela 2 apresenta os resultados de toxicidade obtidos com o *software* AdmetSAR.

Tabela 2 – Toxicidade da buteína

Parâmetro	Toxicidade	Valor
Toxicidade Oral Aguda	Categoria III	0,77
Carcinogenicidade	Não requerido	0,62
Toxicidade AMES (ADMET)	Não tóxico	0,66
Agentes Cancerígenos	Não cancerígeno	0,90

Fonte: Autoria própria (2020)

De acordo com os resultados, o composto obteve 0,66 quanto a sua Toxicidade AMES, sendo considerado não tóxico, não apresenta agentes cancerígenos e se enquadra na Categoria III de Toxicidade Oral Aguda. A classificação da toxicidade oral aguda dos compostos é organizada pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos em quatro categorias em função de sua dose letal mediana (DL 50)[13], conforme a Tabela 3.

Tabela 3 – Classificação da toxicidade oral aguda e suas categorias

Classificação da Toxicidade Oral Aguda	Dose Letal Mediana
I	DL 50 ≤ 50 mg/kg
II	50 mg/kg < DL 50 ≤ 500 mg/kg
III	500 mg/kg < DL 50 ≤ 5000 mg/kg
IV	DL 50 > 5000 mg/kg

Fonte: Cocco *et al*[1]

Com o valor de 0,77, a buteína se enquadra na Categoria III, ou seja, sua DL50 está entre 500 e 5000 mg/kg, sendo necessária a ingestão de uma elevada quantidade para que o composto seja tóxico ao organismo[25].

4. Conclusões

Tendo em vista os resultados obtidos através dos *softwares* utilizados, pode-se concluir que a buteína apresenta diversas propriedades biológicas associadas ainda não estudadas e suas previsões farmacológicas e toxicológicas apresentam bons resultados, sendo possivelmente de importância para a indústria farmacêutica no desenvolvimento de novos insumos farmacêuticos ativos. Serão necessários mais estudos e pesquisas para uma melhor compreensão de suas propriedades toxicológicas e farmacológicas.

Referências

1. Cocco Daniel Rotella, *et al*. Uso de métodos computacionais para análise farmacológica e toxicológica do velutin [Internet]. 2020 Abril [Acessado em: 15 fev. 2021];5(2):88-99. Disponível em: http://jmhp.fiponline.edu.br/pdf/cliente=13-aec006979db0a72cabad444a29ab1491.pdf

2. ANVISA. Farmacopeia Brasileira. Brasília (Brasil): ANVISA, 2019. 874p.

3. INTERFARMA. Guide 2019. São Paulo (Brasil): INTERFARMA, 2019. 38p.

4. IFPMA. The Pharmaceutical Industry and Global Health. Geneva (Switzerland): IFPMA 2017. 84p.

5. Amaral Antonia Tavares do, *et al*. A evolução da química medicinal no Brasil: avanços nos 40 anos da Sociedade Brasileira de Química. Química Nova [Internet]. 2017 Julho [Acessado em: 14 fev. 2021];40(6) DOI https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170075. Acessado em: https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-40422017000600694&script=sci_arttext

6. Myatt Gleen J, *et al*. In silico toxicology protocols. Regulatory Toxicology and Pharmacology [Internet]. 2018 Julho [Acessado em: 14 fev. 2021];96:1-17. DOI https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2018.04.014. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0273230018301144

7. Enayatkhani Maryam, *et al*. Reverse vaccinology approach to design a novel multi-epitope vaccine candidate against COVID-19: an in silico study. J Biomol Struct Dyn [Internet]. 2020 Maio [Acessado em: 16 fev. 2021];1-16. DOI 10.1080/07391102.2020.1756411. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32295479/.

8. Tielas C. Diaz, et al. Biological activities and novel applications of chalcones. Planta Daninha [Internet]. 2016 Setembro [Acessado em 14 fev. 2021];34(3):607-616. DOI https://doi.org/10.1590/s0100-83582016340300022. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-83582016000300607&script=sci_abstract

9. Ministério da Saúde. Estimativa 2020: incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro (Brasil): INCA, 2019. 122p.

10. Pilon, Alan C. et al. NuBBEDB: An updated database to uncover chemical and biological information from Brazilian biodiversity. Scientific Reports [Internet]. 2017 [Acessado em 15 fev. 2021];7(1):1-12. DOI: http://dx.doi.org/10.1038/s41598-017-07451-x. Disponível em: http://hdl.handle.net/11449/175009.

11. PASS Online-[Internet]. Pharmaexpert.ru. 2011 [acesso em: 12 fev. 2021]. Disponível em: http://www.pharmaexpert.ru/passonline/index.php

12. Molinspiration Cheminformatics [Internet]. Molinspiration.com. 1986 [acesso em: 12 fev. 2021]. Disponível em: https://www.molinspiration.com/

13. Oliveiral Vinicius Filgueiras de, *et al*. Análise farmacológica e toxicológica *in silico* do flavonoide 5-hidroxi-4', 7-dimetoxiflavona. Journal of Medicine and Health Promotion [Internet]. 2018 Março [Acesso em: 15 fev. 2021];3:913-921. Dispoível em: http://jmhp.fiponline.edu.br/pdf/cliente=13-58ef02fe07ddb8bed51caca2387c43eb.pdf

14. AdmetSAR [Internet]. Lmmd.ecust.edu.cn. 2012. Disponível em: http://lmmd.ecust.edu.cn/admetsar2.

15. Marvin was used for drawing, displaying and characterizing chemical structures, Marvin 20.12, ChemAxon (https://www.chemaxon.com)

16. Pubchem [Internet]. https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2483. 2020. [Acessado em 15 fev. 2021]; Disponível em: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5281222.

17. Bordoloi Devivasha, et al. An Investigation on the Therapeutic Potential of Butein, A Tretrahydroxychalcone Against Human Oral Squamous Cell Carcinoma. Asian Pac J Cancer Prev [Internet]. 2019 Novembro [Acessado em: 15 fev. 2021];20(11):3437-3446. DOI 10.31557/APJCP.2019.20.11.3437. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31759370/

18. Semwal Ruchi Badoni, et al. Butein: From ancient traditional remedy to modern nutraceutical. Phytochemistry Letters [Internet]. 2014 Dezembro [Acesso em: 15 fev. 2021];11:188-201. DOI 10.1016/j.phytol.2014.12.014. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/270006862_Butein_From_ancient_traditional_remedy_to_modern_nutraceutical

19. Song Ziwei, *et al*. Butein and Its role in chronic diseases. Advances in Experimental Medicine and Biology [Internet]. 2016 Setembro [Acesso em: 15 fev. 2021]; 928:419-433. DOI 10.007/978-3-319-41334-1_17. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/308672102_Butein_and_Its_Role_in_Chronic_Diseases

20. Padmavathi Ganesan, et al. Butein in health and disease: A comprehensive review. Phytomedicine [Internet]. 2017 Fevereiro [Acesso em: 15 fev. 2021];25:118-127.

Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0944711316302495

21. Jayasooriya Rajapaksha Gedara Prasad Tharanga, et al. Molecular chemotherapeutic potential of butein: A concise review. Food and Chemical Toxicology [Internet]. 2018 Fevereiro [Acessado em: 15 fev. 2021];1:12:1-10. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0278691517307706?via%3Dihub

22. Lipinski C. Lead and drug-like compounds: the rule-of-five revolution. Drug Discovery Today: Technologies [Internet]. 2004 [Acesso em 15 fev. 2021];1(4):337- 341. Disponivel em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1740674904000551

23. Medeiros Herbert Igor Rodrigues de, et al. Rational planning of a drug candidate: in silico studies, synthesis and structural elucidation. Research, Society and Development [Internet]. 2020 Dezembro [Acessado em: 15 fev. 2021];9(11):1-27. DOI http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v9i11.10605. Available from: https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/10605/9337

24. Souza Jaqueline de, Freitas Zaida Maria F., Storpirtis Silvia. Modelos *in vitro* para determinação da absorção de fármacos e previsão da relação dissolução/absorção. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas [Internet]. 2007 Outubro [Acesso em: 15 fev. 2021];43(4):515-527. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-93322007000400004&script=sci_arttext&tlng=pt

25. Palmeira Júlia Tavares, *et al*. Análise farmacológica e toxicológica in silico do ácido undecilênico aplicada a odontologia. Journal of Medicine and Health Promotion [Internet]. 2019 Julho [Acesso em: 15 fev. 2021];4(3):1219-1230. Acessado em:http://jmhp.fiponline.edu.br/pdf/cliente=13-5324078c966ee7ca9f11ffad14903a4.pdf