

Jorddan Javert Pereira¹
Yulla Soares da Silva¹
Fernanda de Moura Alves²
Pedro Martins Bellei¹
Gustavo Henrique Ribeiro Viana²
Kézia Katiani Gorza Scopel³
Bruno Pires de Andrade¹
Jessica Corrêa Bezerra Bellei^{1,3}

¹Faculdade de Farmácia, Fundação Presidente Antônio Carlos, Brasil.

²Núcleo de Pesquisa em Química Biológica, Universidade Federal de São João del-Rei, Campus Centro Oeste Dona Lindu, Brasil.

³Centro de Pesquisa em Parasitologia, Departamento de Parasitologia, Microbiologia e Imunologia, Universidade Federal de Juiz de Fora, Brasil.

✉ **Jessica Bellei**

Campus Universitário, R. José Lourenço Kelmer, s/n, São Pedro, Juiz de Fora, Minas Gerais
CEP: 36036-900
✉ jessica.bellei@ufjf.br

Submetido: 30/09/2023

Aceito: 26/01/2024

RESUMO

Introdução: A malária continua sendo um grave problema de saúde pública mundial, dado os elevados índices anuais de morbimortalidade. O tratamento baseia-se no uso de medicamentos, entretanto, a resistência dos parasitos aos medicamentos disponíveis tem se tornado uma realidade alarmante, o que torna urgente o desenvolvimento de novos fármacos com atividade antimalárica. Em um estudo prévio, selecionou-se três alcaloides β -carbolínicos que apresentaram atividade antimalárica. Dessa forma, o presente trabalho se propôs a dar continuidade ao estudo dessas moléculas avaliando o perfil de metabolismo e toxicidade hepática. **Objetivo:** Avaliar o perfil de metabolismo e toxicidade hepática de três alcaloides β -carbolínicos (1, 2 e 3) selecionados em estudo prévio, que apresentaram atividade antimalárica *in vitro* e *in vivo*.

Material e Métodos: Trata-se de um estudo de abordagem tanto qualitativa quanto quantitativa com caráter experimental e analítico. Foi realizada análise *in silico* das propriedades de metabolismo e toxicidade dos alcaloides empregando a notação SMILES por meio do programa AdmetSAR 2.0. A toxicidade hepática foi avaliada por meio da análise bioquímica da aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT) no soro de camundongos da linhagem C57BL/6, tratados com os alcaloides ou com cloroquina. **Resultados:** Na análise *in silico* foi observada a predição de baixo potencial hepatotóxico para os alcaloides 1 e 2, sendo este resultado corroborado pela dosagem de ALT, que apresentou resultados semelhantes ao do grupo controle. O alcaloide 3, no entanto, apresentou dados contrastantes, indicando potencial hepatotóxico na predição *in silico*, porém, baixo potencial em análise *in vivo*, com valores de ALT também próximos do grupo controle. Todos os alcaloides em estudo apresentaram potencial para interações medicamentosas. **Conclusão:** Os alcaloides avaliados nesse estudo apresentaram parâmetros metabólicos e de toxicidade promissores, podendo ser bons adjuvantes à farmacoterapia da malária. Entretanto, esses resultados precisam ser confirmados para seguimento das moléculas nos estudos pré-clínicos.

Palavras-chave: Farmacocinética; Bioquímica; Citocromo P-450; Modelagem por Computador; Toxicidade.

ABSTRACT

Introduction: Malaria continues to be a serious global public health problem, given the high annual morbidity and mortality rates. It is caused by protozoa of the genus *Plasmodium*, with *P. falciparum* responsible for most serious cases and deaths. Treatment is based on the use of drugs, however, the resistance of parasites to available drugs has become an alarming reality, which makes the development of new drugs with antimalarial activity urgent. In a previous study, our research group selected three β -carboline alkaloids that showed antimalarial activity. Therefore, the present work proposed to continue the study of these molecules by evaluating the metabolism profile and liver toxicity. **Objective:** To evaluate the metabolism and liver toxicity profile of three β -carboline alkaloids (1, 2 and 3) selected in a previous study, which showed antimalarial activity *in vitro* and *in vivo*. **Material and Methods:** This is a study with both a qualitative and quantitative approach with an experimental and analytical nature. *In silico* analysis of the metabolism and toxicity properties of alkaloids was carried out using the SMILES notation through the AdmetSAR 2.0 program. Liver toxicity was evaluated through biochemical analysis of aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) in the serum of mice of the C57BL/6 lineage, treated with the alkaloids or chloroquine. **Results:** In the *in silico* analysis, the prediction of low hepatotoxic potential for alkaloids 1 and 2 was observed, and this result was corroborated by the ALT dosage, which presented results similar to those of the control group. Alkaloid 3, however, presented contrasting data, indicating hepatotoxic potential in *in silico* prediction, however, low potential in *in vivo* analysis, with ALT values also close to the control group. All alkaloids under study showed potential for drug interactions. **Conclusion:** The alkaloids evaluated in this study showed promising metabolic and toxicity parameters and could be good adjuvants for malaria pharmacotherapy. However, these results need to be confirmed to follow the molecules in preclinical studies.

Key-words: Pharmacokinetics; Biochemistry; Cytochrome P-450; Computer Simulation; Toxicity.



INTRODUÇÃO

A malária é um problema mundial de saúde pública, cuja gravidade da infecção é preocupante, visto que dados epidemiológicos do ano de 2021 registraram cerca de 247 milhões de casos da doença e 619 mil mortes.^{1,2} A infecção é causada por parasitos do gênero *Plasmodium* e ocorre por meio da picada do mosquito vetor, fêmeas do mosquito *Anopheles spp*, durante o repasto sanguíneo. Dentre as cinco espécies capazes de infectar e causar malária nos seres humanos, as mais predominantes são *P. vivax* e *P. falciparum*, sendo esta última responsável pela maioria dos casos graves e óbitos da doença.^{2,3}

Ao longo dos anos, o tratamento da doença se deu de forma bem-sucedida por meio de drogas como cloroquina e artemisinina. Porém, o uso indiscriminado desses medicamentos levou ao surgimento de resistência dos parasitos.⁴⁻⁶ Para contornar esse problema e reduzir o surgimento de novas cepas resistentes à terapia medicamentosa disponível, a Organização Mundial da Saúde (OMS) preconiza a terapia combinada à base de artemisinina como tratamento de primeira escolha para a malária *falciparum* e a continuidade do uso de cloroquina para o tratamento de malária causada por *Plasmodium vivax*, onde a resistência a esses medicamentos ainda não é evidente.⁷⁻⁹ Entretanto, já existem relatos de resistência à terapia preconizada pela OMS em países endêmicos para a doença.¹⁰⁻¹² A resistência aos antimaláricos ocorre por meio de mutações que estabelecem alterações moleculares ou metabólicas nos parasitos, sendo assim, o combate aos parasitos resistentes demanda o estudo e desenvolvimento de novos fármacos com atividade antimalárica.^{7,8,13}

Dentre as substâncias utilizadas como protótipo para desenvolvimento de novos antimaláricos, os alcaloides β -carbolínicos vem ganhando destaque. Triagens *in vitro* tem demonstrado atividade antimalárica com concentração inibitória 50% (CI_{50}) na faixa submicromolar e ótimos índices de seletividade.¹⁴⁻¹⁷ Nesse contexto, os alcaloides β -carbolínicos são ótimos candidatos ao estudo de potenciais novos compostos com atividade antiplasmodial.

Em um estudo prévio, nosso grupo de pesquisa avaliou vinte derivados de alcaloides β -carbolínicos sintetizados no Centro de Pesquisa em Química Biológica (NQBio) da Universidade Federal de São João Del-Rei (UFSJ).¹⁸ Por meio de ensaios *in silico*, *in vitro* e *in vivo*, foram identificados três compostos 1, 2 e 3 (Figura 1) com atividade antimalárica, os quais apresentaram a capacidade de modular mecanismos que indicam a probabilidade dessas moléculas atuarem contra enzimas específicas do parasito reduzindo a evolução para o quadro grave da doença, a malária cerebral.¹⁸

Além da eficácia de uma molécula, as características farmacocinéticas e farmacodinâmicas são essenciais para a avaliação de candidatos a novas drogas. Alves et al¹⁸ também avaliaram a predição *in silico* dos parâmetros físico-químicos e farmacocinéticos de absorção e os três compostos (1, 2 e 3) selecionados se mostraram promissores quanto à absorção pelas membranas biológicas demonstrando boa biodisponibilidade quando administrados pela via oral, entretanto, outros parâmetros farmacocinéticos devem ser investigados para complementar os estudos.

A maioria dos fármacos, administrados pela via oral, sofrem metabolização hepática podendo gerar metabólitos ativos, inativos ou tóxicos, depuração da droga e interações farmacológicas.¹⁹ As reações metabólicas são divididas em fase 1 (oxidação, redução e hidrólise) e fase 2 (conjugação) e as enzimas fundamentais para esse processo estão localizadas nos hepatócitos, agrupadas em um grande conjunto denominado citocromo P450 (CYP450).²⁰ Reações de alta energia envolvendo as enzimas do CYP450 podem levar a alteração da homeostase do cálcio intracelular, promovendo, na superfície do hepatócito, a ruptura das fibras de actina, culminando com a lise celular.²¹ Portanto, os medicamentos que estão sujeitos a metabolismo hepático elevado são mais propensos a serem suscetíveis a interações medicamentosas com outros substratos ou indutores do CYP450 e também ao desenvolvimento de hepatotoxicidade.²²

Tendo em vista a necessidade em compreender a toxicocinética dessas moléculas o presente trabalho se propôs a dar continuidade ao estudo desses

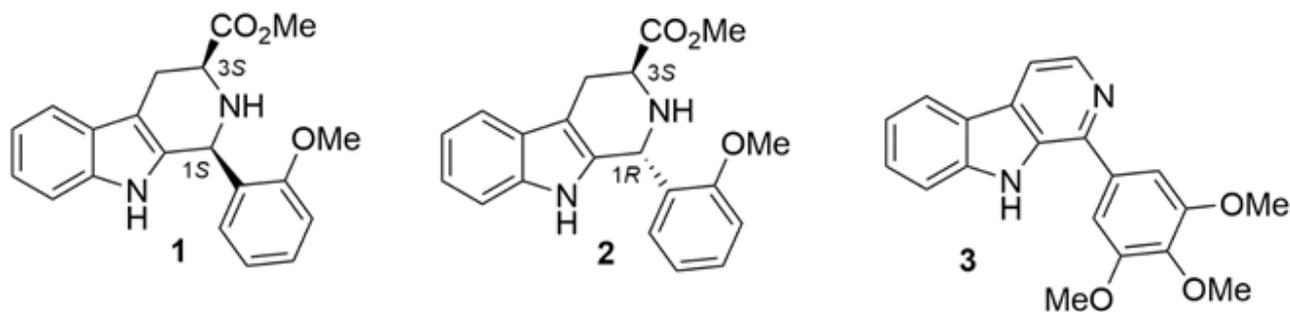


Figura 1: Estrutura química dos alcaloides β -carbolínicos 1, 2 e 3. As moléculas 1 e 2 são diastereoisômeros.

três alcaloides β -carbolínicos sintéticos (1, 2 e 3), previamente selecionados, quanto à avaliação dos parâmetros de metabolismo e toxicidade hepática.¹⁸

MATERIAL E MÉTODOS

Trata-se de um estudo analítico experimental de caráter quali-quantitativo, realizado com a utilização de amostras de soro de camundongos da linhagem C57BL/6 coletadas em estudo prévio. Todos os experimentos realizados em animais foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Juiz de Fora (CEUA-UFJF) sob o número de Parecer 022/2020.

Análise *in silico* das propriedades de metabolismo e toxicidade hepáticas

Para as análises *in silico* foi utilizado o programa AdmetSAR2.0,²³ uma plataforma gratuita disponível no site <http://lmmd.ecust.edu.cn/admetsar2/>. Nessa plataforma, a notação *simplified molecular-input line-entry system* (SMILES) das moléculas foi inserida e as informações sobre metabolismo e toxicidade hepática foram preditos. Em função dessa análise *in silico* ser realizada por meio da fórmula estrutural plana e molecular dos compostos, os alcaloides 1 e 2 foram analisados em conjunto, visto que são moléculas diastereoisômeras e, portanto, possuem mesma fórmula estrutural plana e molecular diferindo apenas no arranjo espacial.^{24,25}

Para estudo do metabolismo hepático foram analisados o potencial inibitório e substrato das seguintes isoenzimas do CYP450: CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, CYP3A4. Para o estudo da toxicidade hepática foi analisado o parâmetro preditivo de hepatotoxicidade.

Dosagens bioquímicas

As amostras biológicas utilizadas neste trabalho foram provenientes de experimentos prévios realizados no Núcleo de Pesquisa em Parasitologia da UFJF (CEUA n° 022/2020). Para tal, foram utilizadas fêmeas de

camundongos da linhagem C57BL/6, com 6 a 8 semanas de idade, as quais foram infectadas com *Plasmodium berghei* ANKA, cepa indutora de malária cerebral, como detalhadamente descrito em Alves et al.¹⁸. Posteriormente, os animais foram tratados com os compostos teste. Os animais foram divididos, aleatoriamente, em 6 grupos experimentais (n= 10 animais/grupo): um grupo infectado e tratado com cloroquina (Sigma-Aldrich, EUA) (CQ); um grupo infectado e não tratado (PbA); um grupo não infectado e não tratado (Ctrl); e três grupos infectados e tratados com os alcaloides sintéticos 1, 2 ou 3 (Tabela 1).

Ao final do experimento, os animais foram eutanasiados com associação de xilazina 1% (Syntec, SP) e quetamina 5% (Syntec, SP), via intraperitoneal, sendo o sangue coletado por punção cardíaca e centrifugado a 3000 rpm por 15 min. Então, o soro foi coletado e armazenado em ultrafreezer a -80°C até o momento da análise. Foram realizadas as dosagens de alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST) para avaliar os parâmetros hepáticos observando a toxicidade dos compostos teste em comparação à droga padrão, cloroquina. As dosagens foram realizadas no laboratório Labclin MG, situado no município de Rio Pomba, Minas Gerais, utilizando o analisador bioquímico *BioSystems* A15, a partir de métodos enzimáticos cinéticos, empregando os kits de reagentes AST Liquiform (Labtest), ALT Liquiform (Labtest).

Análise estatística

Para análise estatística das dosagens bioquímicas foi realizado o teste de normalidade Shapiro-Wilk (n<30 amostras) e, posteriormente, análise de variância por OneWay-ANOVA, com *post test* de Tukey para comparação múltipla. As análises foram realizadas por meio do *software* GraphPad Prism versão 5.0 para Windows (GraphPad Software). Valores encontrados para p<0.05 foram considerados estatisticamente distintos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As propriedades farmacocinéticas de

Tabela 1: Grupos experimentais e seus respectivos esquemas de tratamento, dose e tamanho amostral (n) utilizados no teste antiplasmodial curativo dos alcaloides sintéticos 1, 2 e 3 no estudo conduzido por Alves et al.¹⁸.

Grupo	Tratamento	Dose	n
Ctrl	Sem tratamento	-	10
PbA	Água (3° ao 7°dpi)	-	10
CQ	Cloroquina (3° ao 7°dpi)	10mg/kg	10
1	Alcaloide 1 (3° ao 7°dpi)	10mg/kg	10
2	Alcaloide 1 (3° ao 7°dpi)	10mg/kg	10
3	Alcaloide 1 (3° ao 7°dpi)	10mg/kg	10

Ctrl: Controle; PbA: *Plasmodium berghei* Anka; CQ: Cloroquina; dpi: dia pós-infecção.

biotransformação dos alcaloides foram avaliadas, *in silico*, através da plataforma AdmetSar 2.0 (Tabela 2). Foram avaliadas as interações com as enzimas do CYP450 e o parâmetro de hepatotoxicidade através da predição obtida a partir da notação SMILES das moléculas.

Inicialmente o padrão de metabolismo hepático dos alcaloides mostrou-se semelhante ao da cloroquina, diferindo somente quanto ao potencial de inibição de algumas enzimas.

Diversas substâncias podem interagir como substratos, inibidores ou indutores das enzimas do CYP450, por isso a avaliação das interações "composto-enzima" é ponto chave para o entendimento de possíveis interações medicamentosas que podem ocorrer quando fármacos são administrados de forma concomitante.²⁶ O comportamento das moléculas com o CYP450 é, portanto, amplamente avaliado durante as fases de pesquisa e desenvolvimento de fármacos.

Diante da análise *in silico* realizada, observamos que tanto os alcaloides (1, 2 e 3) quanto a cloroquina são substratos das isoenzimas CYP450 2D6 e CYP450 3A4 (Tabela 2). Rendic et al²⁷ confirmaram que a CYP450 3A4 é uma das principais enzimas participantes no metabolismo da cloroquina. Isso sugere que fármacos que atuem como inibidores dessa isoenzimas, como fluoxetina e omeprazol podem interagir com a cloroquina, bem como com os alcaloides em estudo, interferindo no seu metabolismo e podendo ocasionar seu acúmulo no organismo com consequente toxicidade. Outra interação medicamentosa importante que deve ser observada quanto à CYP450 3A4 é a administração concomitante com fármacos que atuam como indutores dessa isoenzima, como a fenitoína, carbamazepina e prednisona. Nesse caso, essa interação pode levar à redução ou inibição do efeito da cloroquina ou dos alcaloides em estudo, comprometendo a terapêutica da malária, o que pode levar a recrudescências ou à evolução do quadro clínico.²⁸

Curiosamente, todas as moléculas avaliadas *in silico* parecem não ser substrato da CYP450 2C9 e, também, não atuam como inibidores da enzima (Tabela 2). Dessa forma, a associação com fármacos que interagem com a CYP450 2C9, como a fenitoína ou o losartan que são amplamente metabolizadas por essa enzima, pode ser uma vantagem para protocolos terapêuticos onde o emprego conjunto dessas drogas venha a ser uma necessidade.^{29,30}

Entre os resultados preditos pelo programa AdmetSar, também foi possível prever o comportamento dos compostos enquanto inibidores ou não das isoenzimas. Os alcaloides 1, 2 e 3 apresentaram potencial para inibição das CYP450 1A2 e CYP450 3A4. Em contrapartida, a cloroquina não atua como inibidor de nenhuma das isoformas de CYP450 avaliadas (Tabela 2). As estatinas são fármacos amplamente utilizados para tratamento das dislipidemias e que dependem consideravelmente da metabolização do CYP450 3A4

para sua posterior excreção. Dessa forma, substâncias que atuam como inibidores dessa isoenzimas, como os alcaloides em estudo, podem ocasionar o aumento da concentração plasmática das estatinas pela redução de seu metabolismo, o que seria um fator de risco para a toxicidade músculo esquelética.³¹

Diversas outras interações medicamentosas ainda podem ser exploradas através dos resultados preditos para os alcaloides β -carbolínicos, considerando a grande variedade de fármacos utilizados na terapêutica humana. Entretanto, trata-se de um estudo preliminar com valores preditos por meio de análises computacionais, portanto, estudos de farmacocinética e farmacodinâmica *in vitro* e *in vivo* são essenciais para confirmar esses resultados. Além disso, a atuação de uma molécula como inibidora, indutora ou substrato de enzimas CYP450 não são considerados, de maneira geral, um impedimento para seguimento dos estudos da molécula. Tais resultados servem para guiar a prática clínica quanto a possíveis interações medicamentosas que possam ocorrer individualmente.

A análise *in silico* dos alcaloides também apresentou dados preditivos de elevada promiscuidade inibitória, visto que cada um deles apresentou probabilidade para inibir três das cinco isoformas analisadas (Tabela 2). A promiscuidade inibitória é um parâmetro que avalia a capacidade de um único composto inibir múltiplas isoformas da CYP450, indicando, também, o potencial de ocorrer uma interação medicamentosa em um tratamento clínico. É avaliada frente às principais isoformas do CYP450 (1A2, 2C9, 2C19, 2D6 e 3A4). A compreensão dessa análise permite reduzir a ocorrência de efeitos adversos através do planejamento consciente de esquemas farmacoterapêuticos, viabilizando protocolos seguros aos pacientes.³²

Outro parâmetro analisado *in silico* foi a predição para a hepatotoxicidade, onde os resultados para os alcaloides 1 e 2 não indicam toxicidade, enquanto o alcaloide 3, assim como a cloroquina, apresentaram dados que indicam a possível toxicidade hepática (Tabela 2). Dessa forma, decidimos avaliar também a toxicidade hepática em modelos *in vivo* por meio da análise de marcadores de lesão hepatocelular, a fim de confirmar sua ocorrência e/ou extensão. Nesse contexto, as transaminases são bons marcadores de lesão hepatocelular: a ALT está mais presente nos hepatócitos em comparação com os demais tecidos; enquanto a AST encontra-se bem distribuída pelos tecidos e órgãos.³³ A análise da concentração sérica dessas enzimas intracelulares permite avaliar as funções metabólicas do tecido e determinar a ocorrência de uma lesão hepatocelular, resultando no extravasamento das enzimas para o conteúdo citoplasmático.³⁴ Alterações na função hepática podem prejudicar a metabolização de substâncias de todo um organismo, sejam medicamentos, xenobióticos ou compostos endógenos.³⁵

A lesão hepática pode ocorrer tanto em

Tabela 2: Avaliação *in silico* das propriedades de metabolismo e hepatotoxicidade dos alcaloides β-carbolínicos (1, 2 e 3) e do antimalárico cloroquina por meio da plataforma *online* AdmetSar 2.0.

Modelo avaliado/molécula	1 e 2			3			Cloroquina			
	Resultado	Valor	P	Resultado	Valor	P	Resultado	Valor	P	
METABOLISMO										
CYP450 2C9 Substrato	NS	(-)	0.8092	NS	(-)	0.8134	NS	(-)	1.000	
CYP450 2D6 Substrato	S	(+)	0.4544	S	(+)	0.3643	S	(+)	0.4501	
CYP450 3A4 Substrato	S	(+)	0.6759	S	(+)	0.5882	S	(+)	0.6586	
CYP450 1A2 Inibidor	I	(+)	0.7432	I	(+)	0.9351	NI	(-)	0.8586	
CYP450 2C9 Inibidor	NI	(-)	0.7422	NI	(-)	0.7759	NI	(-)	0.9071	
CYP450 2D6 Inibidor	I	(+)	0.6145	NI	(-)	0.6850	NI	(-)	0.9218	
CYP450 2C19 Inibidor	NI	(-)	0.5177	I	(+)	0.7419	NI	(-)	0.9025	
CYP450 3A4 Inibidor	I	(+)	0.5000	I	(+)	0.7367	NI	(-)	0.8308	
CYP promiscuidade inibitória	E	(+)	0.8399	E	(+)	0.9156	B	(-)	0.5496	
TOXICIDADE										
	NT	(-)	0.5630	T	(+)	0.6125	T	(+)	0.8500	

P= probabilidade; S= substrato; NS= não substrato; I= inibidor; NI= não inibidor; E= elevada; B= baixa; T= tóxico; NT= não tóxico; (-): indica probabilidade negativa para o evento; sinal (+): indica probabilidade positiva para o evento.

consequência de alguma doença como em resposta ao efeito de um medicamento. Por isso, nos estudos pré-clínicos ou clínicos a ocorrência e a extensão de lesão hepática são sempre avaliadas no contexto do desenvolvimento de uma nova droga. O objetivo é verificar a possibilidade de empregar a molécula terapêuticamente de forma segura e eficaz para o paciente.^{36,37}

O metabolismo dos camundongos pode sofrer interferências ambientais, genética e até mesmo de manejo, refletindo, entre outros parâmetros, nas dosagens bioquímicas, sendo, por isso, difícil determinar parâmetros de referência entre biotérios, mesmo entre animais de mesmo sexo e linhagem.^{34,38} As análises são mediadas pelo grupo controle (Ctrl) determinado no estudo, onde encontramos os valores médios de 37,57 (variação de 31,34 a 46,37) para ALT e 115,49 (variação de 100,00 a 130,00) para AST que sugerem os valores basais dessas enzimas para os animais do presente estudo (Figura 2).

Analisando as enzimas hepáticas, as observações feitas no presente estudo estão de acordo com a literatura com níveis de ALT e AST significativamente elevados (p

<0,05) no grupo controle não tratado (infectado com PbA) (Figura 2),^{37,39-41} visto que a disfunção hepática é uma das características da malária grave.⁴⁰ Os animais que receberam os alcaloides, independentemente do composto, apresentaram níveis reduzidos de AST e ALT em comparação com camundongos tratados com CQ (Figura 2), indicando segurança do composto para a função hepática do hospedeiro. Além disso, destacamos que os resultados de ALT para os três alcaloides testados não apresentaram diferença estatística (p>0,05) (Figura 2) para o grupo Ctrl, reforçando ainda mais a segurança hepática dos compostos.

Analisando em conjunto, esses resultados sugerem que os alcaloides em estudo são bons candidatos a novas drogas. Ao comparar os resultados das enzimas hepáticas com a análise *in silico* para hepatotoxicidade, podemos observar que os resultados *in vivo* corroboraram a predição de baixo potencial hepatotóxico para os alcaloides 1 e 2, visto que ambos apresentaram valores de ALT, transaminase hepática diretamente relacionada a lesão hepatocelular, que se aproximam do grupo Ctrl (p>0,05) (Figura 2). Entretanto, os resultados *in vivo* para o alcaloide 3 são contrários a predição *in silico*,

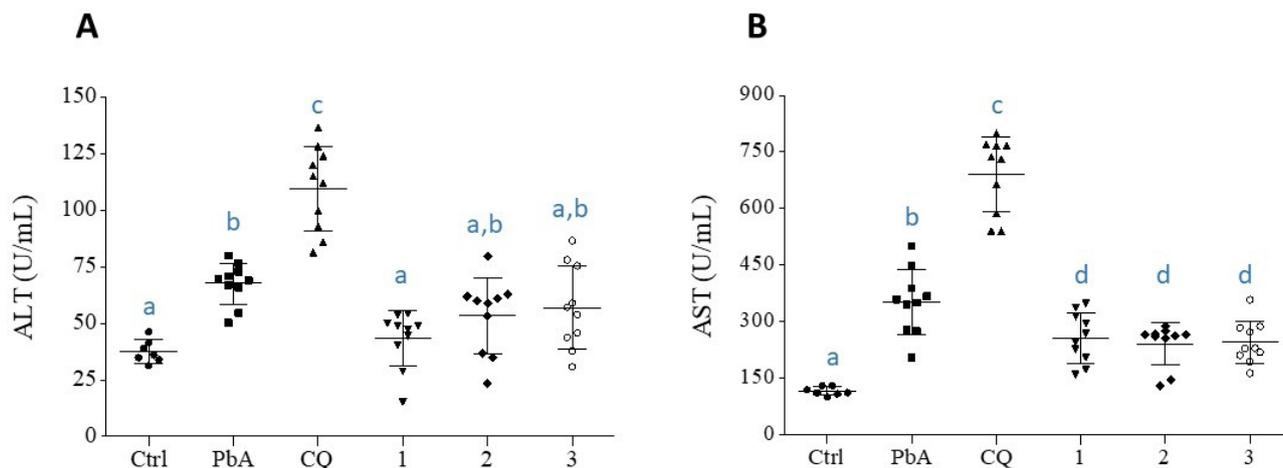


Figura 2: Níveis sorológicos de enzimas hepáticas [ALT (A) e AST (B)] em camundongos C57BL/6. Grupo controle: animais não infectados (Ctrl), grupo infectado por *Plasmodium berguei* Anka não tratado (PbA), grupo infectado e tratado com Cloroquina (10mg/kg) (CQ), e grupos infectados e tratados com os alcaloides β -carbolínicos 1, 2 ou 3 (10mg/kg). Letras diferentes entre as colunas (a, b, c ou d) indicam diferença estatística (valor de $p < 0,05$ (ANOVA + pós-teste Tukey)).

indicando baixo potencial hepatotóxico com valores de ALT que também se aproximam do grupo Ctrl ($p > 0,05$) (Figura 2). Porém, esses resultados precisam ser melhor investigados, visto que apesar de apresentarem perfil ALT semelhante ao grupo Ctrl, os alcaloides 2 e 3 também apresentaram semelhança estatística com o grupo PbA ($p > 0,05$) (Figura 2), indicando um potencial para lesão hepatocelular, porém em menor extensão do que o grupo infectado (PbA).

Além disso, sabe-se que reações de alta energia entre fármacos e enzimas do CYP450 podem levar à lise do hepatócito e, conseqüente, extravasamento do conteúdo intracelular para o interstício, levando ao aumento das enzimas ALT e AST no conteúdo citoplasmático, indicando uma lesão hepatocelular.²¹ Dessa forma, os resultados das enzimas hepáticas para os alcaloides 1, 2 e 3 mostram-se favoráveis, e pode-se presumir que a energia de ligação entre os alcaloides em estudo e as enzimas do CYP450 não são capazes de promover uma lesão hepática, sendo seguros para o tratamento. Entretanto, trata-se de uma análise preliminar e que precisa ser confirmada por meio de estudos *in vitro* e *in vivo* para garantir a segurança dos compostos.

CONCLUSÃO

De maneira geral, os alcaloides β -carbolínicos em estudo apresentaram propriedades de metabolismo promissoras e baixa toxicidade hepática, o que os torna bons candidatos a novas drogas, permitindo o seguimento dos estudos pré-clínicos associados à quimioterapia antimalárica.

CONFLITO DE INTERESSES

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

REFERÊNCIAS

- World Health Organization. World malaria report 2022 [Internet]. WHO: 2022 [citado em 2023 ago 25]. Disponível em: <https://www.who.int/teams/global-malaria-programme>.
- Cortopassi WA, Gunderson E, Annunziato Y, Silva AES, Ferreira AS, Garcia Teles CB et al. Fighting Plasmodium chloroquine resistance with acetylenic chloroquine analogues. *Int J Parasitol Drugs Drug Resist.* 2022; 20:121-8.
- Phillips MA, Burrows JN, Manyando C, Van Huijsduijnen RH, Van Voorhis WC, Wells TNC. Malaria. *Nat Rev Dis Primers.* 2017; 3:1-24.
- World Health Organization. WHO Guidelines for malaria [Internet]. Geneva: WHO Global Malaria Programme; 2023 [citado em 2023 ago 25]. Disponível em: <http://apps.who.int/bookorders>.
- Amelo W, Makonnen E. Efforts made to eliminate drug-resistant malaria and its challenges. *Biomed Res Int.* 2021; 2021:1-12.
- Bellei JCB, Glanzmann N, Carpinter BA, Renhe DC, Marques CB, Azevedo MR et al. A simple quinoline salt derivative is active *in vitro* against Plasmodium falciparum asexual blood stages and inhibits the development of cerebral malaria in murine model. *Chem Biol Interact.* 2022; 355:109848.
- Souza NB. Antimaláricos a partir de moléculas obtidas por síntese como análogos de cloroquina e compostos naftoqui-

- noidais [Tese]. Belo Horizonte: Fundação Oswaldo Cruz; 2015. 138:103-41.
8. Wicht KJ, Mok S, Fidock DA. Molecular mechanisms of drug resistance in plasmodium falciparum malaria. *Annu Rev Microbiol.* 2020; 74:431-54.
 9. World Health Organization. WHO Guidelines for malaria [Internet]. Geneva: WHO Global Malaria Programme; 2021 [citado em 2023 ago 30] Disponível em: <http://apps.who.int/bookorders>.
 10. Noedi H, Se Y, Schaecher K, Smith BL, Socheat D, Fukuda MM. Evidence of artemisinin-resistant malaria in western Cambodia. *N Engl J Med.* 2008; 359(24):2619-20.
 11. Woodrow CJ, White NJ. The clinical impact of artemisinin resistance in Southeast Asia and the potential for future spread. *FEMS Microbiol Rev.* 2017; 41:34-48.
 12. Dondorp AM, Nosten F, Yi P, Das D, Phyo AP, Tarning J et al. Artemisinin resistance in plasmodium falciparum malaria. *N Engl J Med.* 2009; 361(5):455-67.
 13. Chapadense F, Machado RLD, Ventura AMRS, Áreas A, Machado RB, Viana GR et al. Plasmodium falciparum malarial parasites from Brazil lack artemisinin resistance-associated mutations in the kelch13 gene. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2019; 52:1-4.
 14. Frederich M, Tits M, Angenot L. Potential antimalarial activity of indole alkaloids. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2008; 102(1):11-9.
 15. Kaur K, Jain M, Kaur T, Jain R. Antimalarials from nature. *Bioorg Med Chem.* 2009; 17:3229-56.
 16. Passemar C, Saléry M, Soh PN, Linas MD, Ahond A, Poupat C et al. Indole and aminoimidazole moieties appear as key structural units in antiplasmodial molecules. *Phytomedicine.* 2011; 18(13):1118-25.
 17. Wright CW. Traditional antimalarials and the development of novel antimalarial drugs. *J Ethnopharmacol.* 2005; 100:67-71.
 18. Alves FM, Bellei JCB, Barbosa CS, Duarte CL, Fonseca AL, Pinto ACS et al. Rational-based discovery of novel β -carboline derivatives as potential antimalarials: from in silico identification of novel targets to inhibition of experimental cerebral malaria. *Pathogens.* 2022; 11(12):1529.
 19. Pereira DG. Importância do metabolismo no planejamento de fármacos. *Quím Nova.* 2007; 30(1):171-7.
 20. Zanger UM, Schwab M. Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism: Regulation of gene expression, enzyme activities, and impact of genetic variation. *Pharmacol Ther.* 2013; 138:103-41.
 21. Bertolami MC. Mecanismos de hepatotoxicidade. *Arq Bras Cardiol.* 2005; 85:25-7.
 22. Lin JH, Lu AYH. Role of pharmacokinetics and metabolism in drug discovery and development. *Pharmacol Rev.* 1997; 49(4):403-449.
 23. Cheng F, Li W, Zhou Y, Shen J, Wu Z, Liu G et al. AdmetSAR: a comprehensive source and free tool for assessment of chemical ADMET properties. *J Chem Inf Model.* 2012; 52(11):3099-105.
 24. Lima VLE. Os fármacos e a quiralidade: uma breve abordagem. *Quím Nova.* 1997; 20(6):657-63.
 25. Orlando RM. Importância farmacêutica de fármacos quirais. *Rev Eletrônica Farm.* 2007; 4(1):8-14.
 26. Marinho JA. Avaliação in vitro e in vivo da atividade antiplasmodial e citotoxicidade de novos compostos derivados de 4-aminoquinolinas [Tese]. Juiz de Fora: Universidade Federal de Juiz de Fora; 2019.
 27. Rendic S, Guengerich FP. Metabolism and interactions of chloroquine and hydroxychloroquine with human cytochrome P450 enzymes and drug transporters. *Curr Drug Metab.* 2020; 21(14):1127-35.
 28. Zhou SF. Drugs behave as substrates, inhibitors and inducers of human cytochrome P450 3A4. *Curr Drug Metab.* 2008; 9(4):310-22.
 29. Van Booven D, Marsh S, McLeod H, Carrillo MW, Sangkuhl K, Klein TE et al. Cytochrome P450 2C9-CYP2C9. *Pharmacogenet Genomics.* 2010; 20:277-81.
 30. Sica DA, Gehr TWB, Ghosh S. Clinical pharmacokinetics of losartan. *Clin Pharmacokinet.* 2005; 44(8):797-814.
 31. Hirota T, Fujita Y, Ieiri I. An updated review of pharmacokinetic drug interactions and pharmacogenetics of statins. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2020; 16(9):809-22.
 32. Cheng F, Yu Y, Zhou Y, Shen Z, Xiao W, Liu G et al. Insights into molecular basis of cytochrome P450 inhibitory promiscuity of compounds. *J Chem Inf Model.* 2011; 51(10):2482-95.
 33. Araújo FTM. Estabelecimento de valores de referência para parâmetros hematológicos e bioquímicos e avaliação do perfil imunológico de linhagens de camundongos produzidas nos biotérios do Centro de Pesquisas René Rachou/FioCruz – Minas e do Centro de Criação de Animais de Laboratório/ FioCruz [Dissertação]. Belo Horizonte: Fundação Oswaldo Cruz; 2012.

34. Barbosa B de S, Praxedes ÉA, Lima MA, Pimentel MML, Santos FA, Brito PD et al. Perfil hematológico e bioquímico de camundongos da linhagem Balb-c. *Acta Sci Vet.* 2017; 45:1-5.
35. Marra F, Smolders EJ, El-Sherif O, Boyle A, Davidson K, Sommerville AJ et al. Recommendations for dosing of repurposed Covid-19 medications in patients with renal and hepatic impairment. *Drugs R D.* 2021; 21(1):9-27.
36. Yucha RW, He K, Shi Q, Cai L, Nakashita Y, Xia CQ et al. In vitro drug-induced liver injury prediction: criteria optimization of efflux transporter IC50 and physicochemical properties. *Toxicol Sci.* 2017; 157(2):487-99.
37. Gorki V, Walter NS, Singh R, Chauhan M, Dhingra N, Salunke DB et al. β -carboline derivatives tackling malaria: biological evaluation and docking analysis. *ACS Omega.* 2020; 5(29):17993-18006.
38. Melo MGD, Dória GAA, Serafini MR, Araújo AAS. Valores de referência hematológicos e bioquímicos de ratos (*Rattus norvegicus* linhagem Wistar) provenientes do biotério central da Universidade Federal de Sergipe. *Sci Plena.* 2013; 8(9):1-6.
39. Al-Salahy M, Shnawa B, Abed G, Mandour A, Al-Ezzi A. Parasitaemia and its relation to hematological parameters and liver function among patients malaria in abs, Hajjah, Northwest Yemen. *Interdiscip Perspect Infect Dis.* 2016; 2016:5954394.
40. Mizobuchi H, Fujii W, Isokawa S, Ishizuka K, Wang Y, Watanabe S et al. Exacerbation of hepatic injury during rodent malaria by myeloid-related protein 14. *PLoS One.* 2018; 13(6):1-25.
41. Misra D, Das S, Patnaik M, Singh S, Jena RK. Relationship of hepatic and renal dysfunction with haemorrhological parameters in Plasmodium falciparum malaria. *J Assoc Physicians India.* 2011; 59:552-6.