

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA
CURSO DE FARMÁCIA

GABRIELA CRISTIANE MENDES GOMES

**ANÁLISE COMPUTACIONAL DOS EFEITOS BIOLÓGICOS DO ÓLEO
ESSENCIAL DE *Foeniculum vulgare***

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Uruguiana

2022

GABRIELA CRISTIANE MENDES GOMES

**ANÁLISE COMPUTACIONAL DOS EFEITOS BIOLÓGICOS DO ÓLEO
ESSENCIAL DE *Foeniculum vulgare***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como forma de avaliação do componente curricular Trabalho de Conclusão de Curso II, ao curso de Farmácia da Universidade Federal do Pampa, Campus Uruguaiana, como requisito parcial para aprovação na disciplina.

Orientador: Prof. Dr. Michel Mansur Machado

Coorientadora: Dr.^a Luísa Zuravski

Uruguaiana

2022

GABRIELA CRISTIANE MENDES GOMES

ANÁLISE COMPUTACIONAL DOS EFEITOS BIOLÓGICOS DO ÓLEO
ESSENCIAL DE *Foeniculum vulgare*

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Curso de Farmácia da Universidade Federal do
Pampa, como requisito parcial para obtenção do
Título de Bacharel em Farmácia.

Trabalho de Conclusão de Curso defendido e aprovado em: 5, agosto de 2022.

Banca examinadora:

Prof. Dr. Michel Mansur Machado
Orientador (UNIPAMPA)

Prof.^a Dr.^a Suzan Gonçalves Rosa
(UNIPAMPA)

Prof. Dr. Rodrigo José Freddo
(UNIPAMPA)

Dedico este trabalho à minha mãe, meu grande amor, minha inspiração e fortaleza.

Obrigada por sonhar intensamente comigo nestes cinco anos,
e por sempre acreditar em meu potencial.

Eu te amo.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de agradecer à Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA) pela oportunidade de obter um ensino público e de excelência em minha cidade, com estrutura e profissionais altamente qualificados.

Agradeço à minha família, sobretudo minha mãe, Andreia, minha tia Valeria e meu tio Paulo, por todo apoio e suporte a mim confiados. Sou imensamente grata pela celebração de cada conquista, pelo incentivo e o carinho recebidos no decorrer destes cinco anos. Agradeço à minha avó Marta (*in memoriam*) e ao meu querido tio Fábio (*in memoriam*), os quais estiveram sempre vivos em minhas memórias, trazendo força e inspiração para minha jornada.

E não há como pensar em família sem mencionar a amizade, este laço carinhosamente formado ao longo do tempo. À Gabrielle, minha amiga e irmã, obrigada pela amizade tão linda que cultivamos desde o ensino fundamental. Agradeço às minhas colegas de turma, pela alegria de seguir esta trajetória ao lado de pessoas tão especiais. À minha dupla mais do que dinâmica, Camila, meu agradecimento pelos risos, conhecimentos e momentos compartilhados. Às minhas colegas de laboratório e que logo se tornaram grandes amigas, Bibiana, Nathália e Pamella, expresso minha gratidão pelos momentos únicos, dentro e fora do âmbito científico, partilhados com vocês.

Deixo meu agradecimento aos grupos de pesquisa GPFis, LABFAR e GIGA da UNIPAMPA campus Uruguaiana, pela oportunidade de atuar como aluna de iniciação científica e de descobrir minha paixão pela ciência. Sob a orientação das professoras Dr^a Pamella Billig Mello-Carpes e Dr^a Sandra Elisa Haas, e do Prof. Dr. Michel Mansur Machado, pude acompanhar diferentes linhas de pesquisa e descobrir que estudos de grande impacto também são realizados no interior do Rio Grande do Sul.

Por fim, também gostaria de agradecer a todos que, de alguma forma, se fizeram presentes em minha trajetória. É com imensa gratidão que compartilho este momento tão especial com vocês.

RESUMO

Foeniculum vulgare é uma planta perene popularmente conhecida como funcho ou erva-doce, que possui aplicabilidade na culinária, em indústrias de cosméticos e alimentos, bem como na medicina popular para fins terapêuticos. O objetivo deste trabalho foi determinar a caracterização fitoquímica do óleo essencial de *Foeniculum vulgare* e prospectar as atividades biológicas, para humanos, de seus respectivos compostos majoritários através de plataformas *in silico*. A identificação e quantificação dos constituintes presentes no óleo essencial foi realizada utilizando o método de Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas (CG/MS). A partir da determinação fitoquímica, o composto majoritário Trans-Anetol foi submetido a análises computacionais que forneceram informações referentes às suas características moleculares, propriedades farmacológicas e previsão do mecanismo de ação. Os resultados das análises *in silico* revelaram que o Trans-Anetol apresenta biocompatibilidade, boa biodisponibilidade oral, potencial atividade antiinflamatória e efeito anti-câncer. O possível mecanismo relacionado aos efeitos antiinflamatório e anticâncer pôde ser previsto através do módulo DIGEP-Pred da Plataforma *Way2Drug*, que apontou o Trans-Anetol com potencial para reduzir a expressão de TNF e dos genes CXCL2, TNFRSF10B e CASP8, os quais estão relacionados à imunorregulação e apoptose celular.

Palavras-Chave: Funcho; plantas medicinais; óleos essenciais; métodos computacionais, TNF.

ABSTRACT

Foeniculum vulgare is a perennial herb popularly known as fennel or “erva-doce”, which has applicability in culinary, food and cosmetics industries, as well as in traditional medicine for therapeutic purposes. This work aimed to determine the phytochemistry characterization of the *Foeniculum vulgare* essential oil and to prospect the biological activities, for humans, of their respective majority compounds through *in silico* platforms. The identification and characterization of the constituents present in the essential oil were realized using the method of Gas Chromatography Coupled with Mass Spectrometry (GC/MS). From the phytochemical determination, the majority compound Trans-Anethole was submitted to computational analysis which provided information referents to molecular characteristics, pharmacological properties and prediction of the mechanism of action. Results of the *in silico* analysis revealed that Trans-Anethole presents biocompatibility, good oral bioavailability, potential anti-inflammatory activity and anticancer effect. The possible mechanism related to anti-inflammatory and anticancer effects could be elucidated through the *Way2Drug* platform’s DIGEP Pred module, which pointed out the Trans-Anethole with potential to reduce the expression of TNF and CXCL2, TNFRSF10B and CASP8 genes, which are related to immunoregulation and cellular apoptosis.

Keywords: Fennel; medicinal plants; essential oils; computational methods; TNF.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – <i>Foeniculum vulgare</i>	14
Figura 2 – Composição fitoquímica do óleo essencial de <i>Foeniculum vulgare</i>	15

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Plataformas <i>in silico</i>	19
Tabela 2 – Composição do óleo essencial de <i>Foeniculum vulgare</i>	20
Tabela 3 – Características moleculares do Trans-Anetol.....	22

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 OBJETIVOS	13
2.1 Geral	13
2.2 Específicos	13
3 REFERENCIAL TEÓRICO	14
3.1 <i>Foeniculum vulgare</i>	14
3.2 Estudos sobre o óleo essencial de <i>Foeniculum vulgare</i>	15
3.3 Ferramentas <i>in silico</i>	17
4 METODOLOGIA	18
4.1 Aquisição do óleo essencial de <i>Foeniculum vulgare</i>	18
4.2 Análise fitoquímica do óleo essencial de <i>Foeniculum vulgare</i>	18
4.3 Análises <i>in silico</i>	18
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	20
5.1 Análise fitoquímica do óleo de <i>Foeniculum vulgare</i>	20
5.2 Avaliação das características moleculares do Trans-Anetol	21
5.3 Avaliação <i>in silico</i> dos potenciais efeitos biológicos do Trans-Anetol	22
6 CONCLUSÃO	25
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	26

1 INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais é uma prática comum e descrita há cerca de 5000 anos como estratégia para o tratamento de diversas doenças (DUTRA *et al.*, 2016). Inicialmente, as plantas eram utilizadas na forma de pós, chás, emplastos e tinturas. Recentemente, muita atenção tem sido dada aos estudos farmacognósticos, fitoquímicos e farmacológicos de plantas medicinais tradicionais. Além disso, o potencial de atividade biológica tem sido investigado em muitos estudos, revelando diversos efeitos biológicos de uma ampla gama de compostos derivados de plantas (SÜNTAR, 2020).

O Brasil apresenta uma ampla biodiversidade, distribuída entre os biomas Amazônia, Cerrado, Mata Atlântica, Caatinga, Pampa e Pantanal (SILVA *et al.*, 2016). Isso demonstra seu potencial como fonte de plantas medicinais e explica o aumento do número de pesquisas sobre a potencial atividade farmacológica das mesmas (MELO *et al.*, 2011; QUEIROZ *et al.*, 2014; GOS *et al.*, 2017; RIBEIRO *et al.*, 2018).

A *Foeniculum vulgare*, popularmente conhecida como funcho ou erva-doce, é uma planta cujo crescimento no Brasil já foi descrito nos biomas Mata Atlântica, Caatinga e Pampa (MEYER; QUADROS; ZENI, 2012; TEIXEIRA *et al.*, 2016; SÁ-FILHO *et al.*, 2021). Apresenta aplicabilidade na culinária como condimento e na indústria de cosméticos e de alimentos devido às suas propriedades aromáticas (DIAO *et al.* 2014). Além disso, o seu uso na medicina popular está relacionado às propriedades carminativa e anti-inflamatória, no tratamento de distúrbios nos sistemas digestivo e respiratório (HE; HUANG, 2011; RATHER *et al.*, 2016).

Estudos prévios, em modelos animais e *in vitro*, descrevem que o óleo essencial de funcho apresenta propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes, antimicrobianas, hepatoprotetoras, anti-diabéticas e antitumorais (BADGUJAR *et al.*, 2014; DIAO *et al.*, 2014; SHAROPOV *et al.*, 2017), as quais estão relacionadas às características fitoquímicas da planta.

Nas últimas décadas, métodos computacionais têm sido utilizados no processo de identificação e caracterização molecular, predição de interação da molécula analisada com proteínas, mecanismos de ação envolvidos, entre outras atividades (ROMANO; TATONETTI, 2019). A aplicação de ferramentas *in silico* reduz tempo e custos relativos ao processo de pesquisa, e representa uma ferramenta complementar, economicamente viável e eticamente adequada para a análise de compostos químicos de interesse (LIN; LI; LIN, 2020).

Considerando que os estudos descritos na literatura, até onde é de nosso conhecimento, são em modelos animais e/ou *in vitro*, e que as plataformas computacionais representam uma alternativa economicamente viável e rápida, objetivamos avaliar os efeitos terapêuticos do óleo essencial de *Foeniculum vulgare* e os mecanismos de ação envolvidos, em humanos, através de abordagens *in silico*, e relacioná-los aos compostos majoritários previamente identificados.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Determinar a caracterização fitoquímica do óleo essencial de *Foeniculum vulgare* e prospectar as atividades biológicas de seus respectivos compostos majoritários, em humanos, através de plataformas *in silico*.

2.2 Específicos

- Identificar a composição fitoquímica do óleo essencial de *Foeniculum vulgare*;
- Determinar as características moleculares e os efeitos terapêuticos dos compostos majoritários do óleo essencial de *Foeniculum vulgare*;
- Prospectar os mecanismos envolvidos em efeitos farmacológicos atribuídos aos compostos majoritários do óleo essencial de *Foeniculum vulgare*.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 *Foeniculum vulgare*

Foeniculum vulgare é uma planta perene popularmente conhecida como funcho ou erva-doce, pertence à família Apiaceae e apresenta melhor desenvolvimento em regiões de clima temperado ou tropical, com solo drenado, seco, de baixa acidez e sob temperaturas amenas, onde pode alcançar até 2,5 metros (BOŽOVIĆ *et al.*, 2021; MEHRA; TAMTA; NAND, 2021).

É amplamente utilizada na culinária, em indústrias farmacêuticas e alimentícias devido às suas características aromáticas, e na medicina popular apresenta potencial no tratamento de diversas doenças (KHAZAEI; DASTAN; EBADI, 2021).

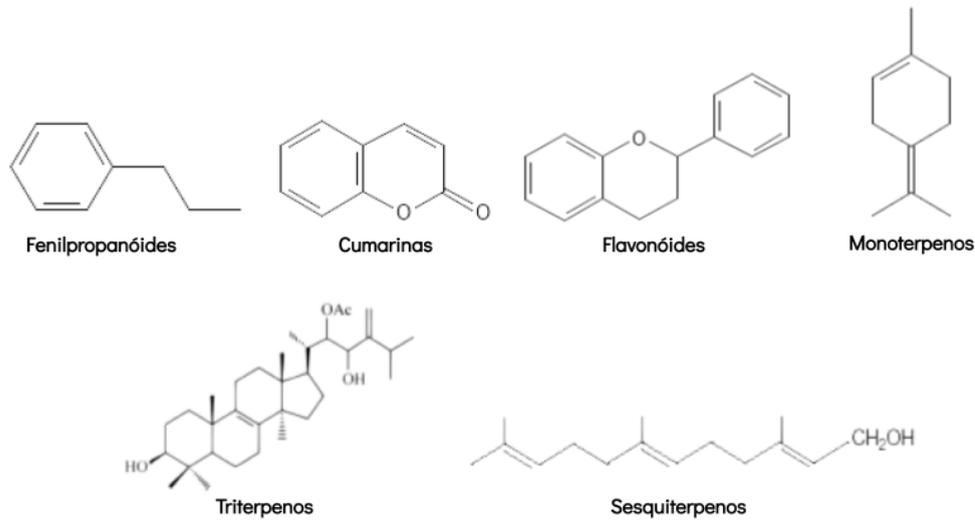
Figura 1 - *Foeniculum vulgare*



Fonte: Disponível em https://jb.utad.pt/especie/Foeniculum_vulgare

Na medicina tradicional, existem relatos do uso de funcho na forma de pó, extrato aquoso das folhas ou após decocção dos frutos da planta (RAHIMI; ARDEKANI, 2013). Além disso, o óleo essencial de *Foeniculum vulgare* comumente é extraído dos frutos, raízes, partes aéreas ou sementes da planta (PAVELA *et al.*, 2016).

Figura 2 - Composição fitoquímica do óleo essencial de *Foeniculum vulgare*



Fonte: A autora, com adaptações de ALVARENGA E MELO, 2005; LIMA; BEZERRA, 2012; MOREIRA, 2013; CUNHA et al., 2018; BARRETO; GASPI; OLIVEIRA, 2020; FRANCO et al., 2021.

Estudos prévios descrevem que o óleo essencial de *Foeniculum vulgare* apresenta em sua constituição fenilpropanóides, monoterpenos, triterpenos, sesquiterpenos, ácidos graxos, cumarinas, taninos, flavonóides, saponinas, entre outros constituintes exemplificados na **Figura 2**. A quimiodiversidade observada na composição fitoquímica do óleo é relacionada a fatores como a localização geográfica, método de extração, partes utilizadas da planta, condições do solo e cultivo (MESFIN; ASRES; SHIBESHI, 2014; IBRAHIM; MOUSSA, 2021).

3.2 Estudos sobre o óleo essencial de *Foeniculum vulgare*

O óleo essencial de *Foeniculum vulgare* está relacionado a uma ampla variedade de atividades farmacológicas, entres estas o efeito anti-inflamatório e a atividade antioxidante *in vitro*, determinadas através do ensaio da atividade da 5-lipoxigenase conforme descrito por Aazza *et al* (2014). Os autores relataram que estes efeitos podem ser atribuídos ao composto majoritário *E*-anetol, no entanto, outros componentes do óleo podem antagonizar parcialmente este fenilpropanóide, visto que o óleo essencial apresentou menor atividade que o composto isolado *E*-anetol.

Mesfin *et al.* (2014) descreveram potencial atividade ansiolítica do óleo essencial de *Foeniculum vulgare* em camundongos, cuja exposição consistiu em pré-tratamento com o óleo essencial na faixa de concentrações entre 50 e 400 mg/kg. A melhora dos sintomas nas

concentrações de 100 e 200 mg/Kg ilustra o potencial efeito terapêutico do funcho no manejo de distúrbios neurológicos como a ansiedade.

Wakabayashi *et al.* (2015) demonstraram a atividade anti-helmíntica *in vitro* do óleo essencial de *Foeniculum vulgare*. A exposição à 100 µg/mL de óleo essencial de *Foeniculum vulgare* durante 120 h causou a morte de 50% das formas adultas e a interrupção do desenvolvimento dos ovos de *Schistosoma mansoni*.

O óleo essencial de *Foeniculum vulgare* também apresentou propriedade antidiabética em um modelo animal de diabetes induzida por Estreptozotocina, o qual foi exposto a uma nanoemulsão de óleo essencial de *Foeniculum vulgare* em um sistema transdérmico nas concentrações de 30, 60 e 120 mg/Kg (MOSTAFA *et al.*, 2015). Foi observada diminuição dos níveis de glicose plasmática em todas as concentrações analisadas, com prolongamento dos efeitos por 7 dias após a exposição a 60 e 120 mg/Kg de óleo.

A atividade antitumoral do óleo essencial de *Foeniculum vulgare* foi elucidada por SHAROPOV *et al.* (2017) nas linhagens celulares tumorais humanas HeLa, Caco-2, MCF-7, CCRF-CEM e CEM/ADR5000 expostas ao óleo na faixa de concentrações entre 10 mg/L e 5 g/L por 24 h. Os autores atribuíram este efeito aos compostos anetol e estragol, que interferiram na fluidez e permeabilidade da membrana, promovendo morte celular por necrose e apoptose celular.

A propriedade antimicrobiana do óleo essencial de *Foeniculum vulgare* foi avaliada por Ghasemian *et al.* (2020) através do ensaio de disco difusão nas concentrações de 12,5 µg/mL, 25 µg/mL e 50 µg/mL, no qual as cepas de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 apresentaram halo de 20 e 18 mm, respectivamente, quando expostas à concentração de 50 µg/mL. Ainda, utilizando o ensaio de microdiluição na faixa de concentrações entre 0,50 e 512 µg/mL, os pesquisadores determinaram a Concentração Inibitória Mínima (CIM) de 64 µg/mL e Concentração Bactericida Mínima (CBM) de 128 µg/mL para a cepa de *S. aureus* ATCC 25923, e CIM e CBM de 128 µg/mL e 256 µg/mL, respectivamente, frente às cepas de *E. coli*.

Ghasemian *et al.* (2020) avaliaram a citotoxicidade do óleo essencial de *Foeniculum vulgare* através de ensaio com 3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difenil brometo de tetrazolina (MTT) em linhagem celular humana de câncer de mama (MCF-7). Os resultados demonstraram que o óleo essencial de *Foeniculum vulgare* conferiu efeito inibitório em células MCF-7 nas concentrações de 50 µg/mL e 100 µg/mL de maneira dose-dependente.

Chen *et al.* (2020) demonstraram um valor de concentração inibitória média (IC₅₀) inferior a 30 µg/mL de óleo essencial *Foeniculum vulgare* em linhagem celular humana de

câncer gástrico (MGC-803) após 48 h de exposição.

Em conjunto, os estudos mencionados evidenciam atividades biológicas do óleo essencial de *Foeniculum vulgare*, determinadas através de diferentes metodologias experimentais, evidenciando-o como um coadjuvante potencial para o manejo de diferentes condições e/ou doenças.

3.3 Ferramentas *in silico*

As metodologias *in silico* incluem ferramentas para design de moléculas, avaliação de parâmetros farmacocinéticos, farmacodinâmicos, identificação de alvos biológicos, relações quantitativas ou qualitativas de relação estrutura-atividade, predição de atividades biológicas e toxicidade, análises de *docking molecular*, com previsão de interações entre o composto teste e alvos específicos (SEHGAL *et al.*, 2013; LAGUNIN *et al.*, 2014; YANG *et al.*, 2018; BROGI *et al.*, 2020; PHO *et al.*, 2022).

As ferramentas *in silico* viabilizam o princípio dos 3 Rs, substituição, redução e refinamento (do inglês: Replacement, Reduction and Refinement) no uso de animais em pesquisa e a execução de estudos com abordagens rápidas, custo-efetivas e de alto rendimento (GRAHAM *et al.*, 2021), demonstrando o seu potencial e os benefícios de seu emprego na área da pesquisa.

4 METODOLOGIA

Foi empregada metodologia do tipo experimental, com caracterização fitoquímica do óleo essencial de *Foeniculum vulgare* e análise computacional dos compostos majoritários previamente identificados.

4.1 Aquisição do óleo essencial de *Foeniculum vulgare*

O óleo essencial de *Foeniculum vulgare* foi obtido de forma comercial da empresa nacional BioEssência, com certificação de ingredientes naturais e orgânicos do Instituto Biodinâmico de Desenvolvimento Rural (IBD).

4.2 Análise fitoquímica do óleo essencial de *Foeniculum vulgare*

A análise fitoquímica do óleo essencial de *Foeniculum vulgare* foi realizada por um laboratório parceiro, através do método de Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG/MS) (CUNHA *et al.*, 2015). Os tempos de retenção obtidos foram comparados com os descritos na literatura e presentes no banco de dados do National Institute of Standards and Technology (NIST) (ADAMS, 1995), sendo assim, possível identificar os compostos majoritários presentes no óleo essencial de *Foeniculum vulgare*.

4.3 Análises *in silico*

A predição das atividades biológicas dos compostos majoritários óleo essencial de *Foeniculum vulgare* em humanos, foi executada através de plataformas computacionais. Inicialmente, foi utilizada a plataforma PubChem (KIM *et al.*, 2016), para busca da forma canônica dos compostos-principais identificados no óleo, seguido da plataforma MolInspiration (Cheminformatics, 2020) para análise do perfil de biodisponibilidade das moléculas, com interpretação baseada na “Regra dos Cinco” de Lipinski (LIPINSKI *et al.*, 1997). Os módulos PASS Online e DIGEP Pred da plataforma Way2Drug (LAGUNIN *et al.*, 2013; FILIMINOV *et al.*, 2014) foram utilizados para a predição das atividades biológicas dos compostos majoritários, e para a previsão de expressão gênica em humanos, respectivamente, ou seja, o impacto dos processos de *Upregulation* e *Downregulation*, na expressão de genes. Ainda, o banco de dados GeneCards (SAFRAN *et al.*, 2021) foi

empregado para suporte de informações sobre as proteínas e os genes envolvidos e previstos nas plataformas anteriores (**Tabela 1**). Foram considerados significativos as predições com probabilidade superior a 70%.

Tabela 1 - Plataformas *in silico*

Plataformas Utilizadas	Previsão	URL
PubChem	Forma canônica	https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/
MolInspiration	Biodisponibilidade	https://www.molinspiration.com/
Way2Drug (módulo PASS Online)	Atividades biológicas	http://www.way2drug.com/PassOnline/index.php
Way2Drug (módulo DIGEP-Pred)	Expressão gênica	http://www.way2drug.com/GE/index.php
GeneCards	Informações sobre proteínas e genes relacionados	http://www.genecards.org/

Fonte: A autora.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Análise fitoquímica do óleo de *Foeniculum vulgare*

A **Tabela 2** apresenta os constituintes do óleo essencial de *Foeniculum vulgare*, identificados pelo método de Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (GC-ES). Entre os compostos identificados, o Trans-Anetol exibiu a maior concentração, correspondendo a 76%. Outros constituintes foram detectados em menor concentração, tais como Fenchona (6,8%), Limoneno (4,5%), α -Pineno (3,8%), Estragol (3,5%), α -Terpineno (1,4%) entre outros. A metodologia empregada permitiu identificar 99,6% dos constituintes presentes no óleo essencial de *Foeniculum vulgare* analisado.

Tabela 2- Composição do óleo essencial de *Foeniculum vulgare*

Composto	IR calc.	Porcentagem
Trans-Anetol	1284	76,0
Fenchona	1063	6,8
Limoneno	1001	4,5
α -Pineno	914	3,8
Estragol	1185	3,5
α -Terpineno	977	1,4
Anisona	1386	0,8
Anisaldeído	1245	0,8
p-Cimeno	997	0,5
Mirceno	964	0,5
β -Pineno	951	0,4
γ -Terpineno	1033	0,3
Fenchol	1124	0,2
Canfeno	927	0,1
Total identificado (%)		99,6

Fonte: A autora.

Legenda: Proporções relativas dos constituintes do óleo essencial foram expressas em porcentagens. IR: índice de retenção.

Nossos resultados são similares aos achados de Ahmed *et al.* (2019) que identificaram

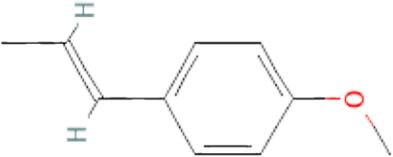
e quantificaram Trans-Anetol (54,26%), Estragol (20,25%), *L*-Fenchona (7,36%) e Limoneno (2,41%) no óleo essencial extraído das sementes de *Foeniculum vulgare* provenientes da China. Por outro lado, Ahmed *et al.* não observaram a mesma composição quantitativa no óleo essencial obtido de sementes oriundas do Egito, o qual apresentou Estragol (51,04%), Limoneno (11,45%), *L*-Fenchona (8,19%) e Trans-Anetol (3,62%), ambas as análises foram realizadas através de análise por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas. Ainda, através do mesmo método citado anteriormente, Belabdelli *et al.* (2020) identificaram a predominância do composto Estragol (84,8%), seguido de Limoneno (7,8%) e Fenchona (3,1%) no óleo essencial extraído de sementes de *Foeniculum vulgare* oriundas da Argélia. Cabe ressaltar, que a variabilidade dos componentes e concentrações identificados no óleo de *F. vulgare* pode estar relacionada a fatores como estado fenológico, localização geográfica, solo, condições de cultivo, aspectos climáticos, método de extração e a parte da planta utilizada para sua extração (AHMED *et al.*, 2019; ILIĆ *et al.*, 2019).

5.2 Avaliação das características moleculares do Trans-Anetol

Considerando que o composto Trans-Anetol apresentou predominantemente a maior concentração, conforme ilustrado na **Tabela 2**, correspondendo a 76,0% da composição do óleo, as avaliações computacionais se restringiram ao referido composto.

Na **Tabela 3** estão apresentadas as características moleculares, conforme dados obtidos pela plataforma Molinspiration.

Tabela 3 - Características moleculares do Trans-Anetol

	Trans-Anetol
Estrutura	
miLogP	3,10
TPSA	9,23
Número de Átomos	11
Massa Molecular	148,21
Número de "H" Ionizáveis	1
Número de "H" Não-Ionizáveis	0
Número de Violações à Lei de Lipinsk	0
Volume Molecular	153,57

Fonte: A autora.

Legenda: * miLogP = Coeficiente de partição Octanol-água; * TPSA = área de superfície polar.

A Molinspiration é uma ferramenta que permite prever as propriedades moleculares de um composto baseando-se na “Regra dos Cinco” de Lipinski, à qual consiste em parâmetros físico-químicos relacionados à potencial biodisponibilidade oral de uma molécula, sendo estes: o coeficiente de partição (miLogP) ≤ 5 , peso molecular $\leq 500 \text{ g.mol}^{-1}$, área de superfície polar (TPSA) $\leq 140 \text{ \AA}$, número de aceptores de ligação de hidrogênio ≤ 10 e doadores de ligação de hidrogênio ≤ 5 (MANI *et al.*, 2021).

5.3 Avaliação *in silico* dos potenciais efeitos biológicos do Trans-Anetol

Inicialmente, a forma canônica do composto majoritário Trans-Anetol foi obtida na plataforma PubChem, e então submetida à análise no módulo PASS Online da plataforma *Way2Drug*. Os resultados apontam que o Trans-Anetol apresenta probabilidade de 74,5% de reduzir a expressão do Fator de Necrose Tumoral (TNF). O TNF é uma citocina relacionada à regulação de processos como diferenciação e proliferação celular, apoptose, coagulação e metabolismo de lipídios (MINCHENKO *et al.*, 2016). Esta citocina é produzida por células do sistema imune como macrófagos, linfócitos e monócitos, além de fibroblastos e células

epiteliais, desempenhando importante papel em processos inflamatórios (DELGADO; BRUNNER, 2019).

Além disso, o módulo DIGEP-Pred da plataforma *Way2Drug* indicou probabilidade de 84,1% de o Trans-Anetol promover *Downregulation* do gene CXCL2 (OKAMURA *et al.*, 2020; LIU *et al.*, 2022; MOHAMMADI *et al.*, 2022). A proteína expressa pelo gene CXCL2 é uma citocina pró-inflamatória expressa sobretudo em macrófagos, células gliais e endoteliais e desempenha funções importantes no reparo de danos relativos a processos inflamatórios como migração e adesão celular, reorganização do citoesqueleto e respostas do sistema imune (GUO, L. *et al.*, 2019; ZHANG *et al.*, 2019). Esta citocina também é altamente expressa em tumores de mama, próstata, cólon e fígado, e estudos prévios também a relacionaram a eventos como doenças cardiovasculares e diabetes (GUO, L. *et al.*, 2019; GUO, Z. *et al.*, 2021).

Ainda, a análise *in silico* aponta probabilidade de 71,1% de o Trans-Anetol induzir *Downregulation* do gene TNFRSF10B, que codifica a expressão do receptor de morte 5, membro de uma família de citocinas relacionadas ao processo de apoptose celular (MINCHENKO *et al.*, 2016). A expressão desse gene foi anteriormente descrita em células do cerebelo, fígado, pulmão e tireóide, enquanto níveis elevados já foram observados em melanomas e câncer de pulmão (CHANG *et al.*, 2022). Também, o aumento da expressão de TNFRSF10B foi relatado por Chang *et al.* (2022) em pacientes com câncer de pulmão, relacionando-o a um mau prognóstico da doença.

Sob essa perspectiva, a ação de *Downregulation* dos genes CXCL2 e TNFRSF10B (probabilidades de 84,1 e 71,1%, respectivamente) prevista para o Trans-Anetol configura, em casos de condições patológicas como câncer, eventos cardiovasculares e diabetes, uma alternativa para o manejo dessas condições.

Por fim, a plataforma DIGEP-Pred também previu o efeito do Trans-Anetol na redução da expressão de CASP8 (probabilidade de 77,6%). O gene CASP8 codifica duas isoformas da Caspase-8, proteína que atua no processo de apoptose celular através de duas vias de sinalização, clivação direta da caspase-8 às proteínas-alvo como caspase-3, ou amplificação do sinal, mediado pela caspase-8, em uma via mitocondrial com ativação da caspase-3, desencadeando assim a apoptose (LIEDTKE; TRAUTWEIN, 2012). Anteriormente, foi descrita a heterogeneidade de sua expressão, uma vez que o aumento da expressão de CASP8 já foi relacionado à malignidade em alguns tipos de câncer, sobretudo hepatocarcinoma, câncer pancreático e de colo do útero, enquanto a redução já foi relacionada a tumores neuroendócrinos e câncer prostático (STUPACK, 2013). Deste modo, observa-se

uma possível relação de CASP8 à progressão ou supressão de tumores específicos, e a *Downregulation* da expressão do gene CASP8, apontada para o Trans-Anetol, como potencial estratégia para o tratamento de determinadas neoplasias.

Portanto, os resultados indicam potencial efeito antiinflamatório e efeito anticâncer do óleo essencial de *Foeniculum vulgare*, possivelmente conferido pelo constituinte Trans-Anetol. A hipótese mecanística relacionada à propriedade antiinflamatória refere-se à *Downregulation* da expressão do Fator de Necrose Tumoral e o efeito anticâncer à *Downregulation* dos genes CXCL2, TNFRSF10B e CASP8. A redução na expressão dos genes CXCL2, TNFRSF10B e CASP8 podem interferir na resposta imune e apoptose celular, consequentemente melhorando o status inflamatório.

6 CONCLUSÃO

Em suma, o óleo essencial de *Foeniculum vulgare* analisado apresenta o Trans-Anetol como composto majoritário, seguido de Fenchona, Limoneno, α -Pinoeno, Estragol, α -Terpineno e outros constituintes presentes em menores concentrações.

As avaliações *in silico* do óleo essencial de *Foeniculum vulgare* indicaram que o Trans-Anetol atendeu aos critérios determinados pela “Regra dos Cinco” de Lipinski, apresentando biocompatibilidade e boa biodisponibilidade oral. Além disso, o óleo de funcho manifestou potencial antiinflamatório e anti-câncer *in silico*, atribuídos à inibição da expressão de TNF, e à redução na expressão dos genes CXCL2, TNFRSF10B e CASP8 respectivamente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AAZZA, S. *et al.* Anti-oxidant, anti-inflammatory and anti-proliferative activities of Moroccan commercial essential oils. **Natural Product Communications**, v. 9, n. 4, p. 587-594, 2014.
- ADAMS, R. P. **Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy**, ed, 4, p. 469, 1995.
- AHMED, A. F. *et al.* Comparative analysis of antioxidant activities of essential oils and extracts of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) seeds from Egypt and China. **Food Science and Human Wellness**, v. 8, n. 1, p. 67-72, 2019.
- BADGUJAR, S. B.; PATEL, V. V.; BANDIVDEKAR, A. H. *Foeniculum vulgare* Mill: A Review of Its Botany, Phytochemistry, Pharmacology, Contemporary Application, and Toxicology. **BioMed Research International**, v. 2014, 2014.
- BAJAJ, C.; PARK, S.; THANE, A. Parallel Multi-PC Volume Rendering System. **CS & ICES Technical Report, University of Texas at Austin**, v. 2, p. 2, 2002.
- BAJAJ, C. L.; PASCUCI, V.; SCHIKORE, D. R. Fast isocontouring for improved interactivity. **Proceedings of 1996 Symposium on Volume Visualization**, 1996, IEEE. p.39-46.
- BELABDELLI, F. *et al.* Chemical composition and antifungal activity of *Foeniculum vulgare* Mill. **Chemistry Africa**, v. 3, n. 2, p. 323-328, 2020.
- BOŽOVIĆ, M. *et al.* *Foeniculum vulgare* Miller, a New Chemotype from Montenegro. **Plants**, v. 11, n. 1, p. 42, 2021.
- BROGI, S. *et al.* *In silico* methods for drug design and discovery. **Frontiers In Chemistry**, v. 8, p. 612, 2020.
- CHANG, W. *et al.* Deep exploration of immune function in EGFR wild-type and mutated lung adenocarcinomas by gene expression profiling: role of TRAIL-R2 (TNFRSF10B) in patient treatment and outcome. **Human Pathology**, v. 126, p. 9-18, 2022.
- CHEMINFORMATICS, M. **Molinspiration. Web-enabled software for large-scale calculation of molecular properties and database searches, Free online molecular descriptor calculations 2020.**
- CHEN, F. *et al.* Insight into the essential oil isolation from *Foeniculum vulgare* Mill. fruits using double-condensed microwave-assisted hydrodistillation and evaluation of its antioxidant, antifungal and cytotoxic activity. **Industrial Crops and Products**, v. 144, p. 112052, 2020.
- CHEN, X. *et al.* Analysis of the physicochemical properties of acaricides based on Lipinski's rule of five. **Journal of computational biology**, v. 27, n. 9, p. 1397-1406, 2020.

- CUNHA, F. A. B. *et al.* *Eugenia uniflora* leaves essential oil induces toxicity in *Drosophila melanogaster*: involvement of oxidative stress mechanisms. **Toxicology Research**, v. 4, n. 3, p. 634-644, 2015.
- DELGADO, M. E.; BRUNNER, T. The many faces of tumor necrosis factor signaling in the intestinal epithelium. **Genes & Immunity**, v. 20, n. 8, p. 609-626, 2019.
- DIAO, W. R. *et al.* Chemical composition, antibacterial activity and mechanism of action of essential oil from seeds of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). **Food Control**, v. 35, n. 1, p. 109–116, 2014.
- FATHI, M. *et al.* Food-grade colloidal systems for the delivery of essential oils. **Food Reviews International**, v. 37, n. 1, p. 1-45, 2021.
- FILIMONOV, D. A. *et al.* Prediction of the biological activity spectra of organic compounds using the PASS online web resource. **Chemistry of Heterocyclic Compounds**, v. 50, n. 3, p. 444-457, 2014.
- GHASEMIAN, A. *et al.* Chemical composition and antimicrobial and cytotoxic activities of *Foeniculum vulgare* Mill essential oils. **Journal of Gastrointestinal Cancer**, v. 51, n. 1, p. 260-266, 2020.
- GOS, F. M. W. R. *et al.* Antibacterial activity of endophytic actinomycetes isolated from the medicinal plant *Vochysia divergens* (Pantanal, Brazil). **Frontiers in Microbiology**, v. 8, p. 1-17, 2017.
- GRAHAM, J. C. *et al.* The performance, reliability and potential application of *in silico* models for predicting the acute oral toxicity of pharmaceutical compounds. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 119, p. 104816, 2021.
- GUO, L. *et al.* CXCL2, a new critical factor and therapeutic target for cardiovascular diseases. **Clinical and Experimental Hypertension**, v. 42, n. 5, p. 428-437, 2019.
- GUO, Z. *et al.* Bioinformatics and immunohistochemistry analyses of expression levels and clinical significance of CXCL2 and TANs in an oral squamous cell carcinoma tumor microenvironment of *Prophyromonas gingivalis* infection. **Oncology Letters**, v. 21, n. 3, p. 1-1, 2021.
- HE, W.; HUANG, B. A review of chemistry and bioactivities of a medicinal spice: *Foeniculum vulgare*. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 5, n. 16, p. 3595-3600, 2011.
- IBRAHIM, N.; MOUSSA, A. Y. A comparative volatilomic characterization of Florence fennel from different locations: antiviral prospects. **Food & Function**, v. 12, n. 4, p. 1498–1515, 2021.
- ILIĆ, D. P. *et al.* Improvement of the yield and antimicrobial activity of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) essential oil by fruit milling. **Industrial Crops and Products**, v. 142, p. 111854, 2019.

KAR, S.; LESZCZYNSKI, J. Open access *in silico* tools to predict the ADMET profiling of drug candidates. **Expert Opinion on Drug Discovery**, v. 15, n. 12, p. 1473-1487, 2020.

DUTRA, R. C. *et al.* Medicinal plants in Brazil: Pharmacological studies, drug discovery, challenges and perspectives. **Pharmacological Research**, v. 112, p. 4–29, 2016.

Foeniculum vulgare Mill. populations growing widely in Tunisia. **Journal of Food Biochemistry**, v. 42, n. 3, p. e12532, 2018.

KHAZAEI, M.; DASTAN, D.; EBADI, A. Binding of *Foeniculum vulgare* essential oil and its major compounds to double-stranded DNA: *In silico* and *in vitro* studies. **Food Bioscience**, 41, 2021.

KIM, S. *et al.* PubChem substance and compound databases. **Nucleic Acids Research**, v. 44, n. D1, p. D1202-D1213, 2016.

LAGUNIN, A. *et al.* DIGEP-Pred: web service for *in silico* prediction of drug-induced gene expression profiles based on structural formula. **Bioinformatics**, v. 29, n. 16, p. 2062-2063, 2013.

LAGUNIN, A. A. *et al.* Chemo-and bioinformatics resources for *in silico* drug discovery from medicinal plants beyond their traditional use: a critical review. **Natural Product Reports**, v. 31, n. 11, p. 1585-1611, 2014.

LAVECCHIA, A.; CERCHIA, C. *In silico* methods to address polypharmacology: current status, applications and future perspectives. **Drug Discovery Today**, v. 21, n. 2, p. 288-298, 2016.

LIN, X.; LI, X.; LIN, X. A review on applications of computational methods in drug screening and design. **Molecules**, v. 25, n. 6, p. 1375, 2020.

LIPINSKI, C. A. *et al.* Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 23, n. 1-3, p. 3-25, 1997.

LIU, P. *et al.* Integrated Network Pharmacology and Experimental Validation Approach to Investigate the Therapeutic Effects of Capsaicin on Lipopolysaccharide-Induced Acute Lung Injury. **Mediators of inflammation**, v. 2022, 2022.

MADDEN, J. C. *et al.* A review of *in silico* tools as alternatives to animal testing: Principles, resources and applications. **Alternatives to Laboratory Animals**, v. 48, n. 4, p. 146-172, 2020.

MEHRA, N.; TAMTA, G.; NAND, V. A review on nutritional value, phytochemical and pharmacological attributes of *Foeniculum vulgare* Mil. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 10, n. 2, p. 1255-1263, 2021.

MELO, J. G. *et al.* Medicinal plants used as antitumor agents in Brazil: an ethnobotanical approach. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2011, 2011.

MESFIN, M.; ASRES, K.; SHIBESHI, W. Evaluation of anxiolytic activity of the essential oil

of the aerial part of *Foeniculum vulgare* Miller in mice. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 14, n. 1, p. 1-7, 2014.

MEYER, L.; QUADROS, K.; ZENI, A. L. B. Etnobotânica na comunidade de Santa Bárbara, Ascurra, Santa Catarina, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 10, n. 3, p. 258, 2012.

MINCHENKO, O. H. *et al.* The role of the TNF receptors and apoptosis inducing ligands in tumor growth. **The Ukrainian Biochemical Journal**, n. 88, № 5, p. 18-37, 2016.

MOHAMMADI, S. *et al.* High-intensity interval training with probiotic supplementation decreases gene expression of NF- κ B and CXCL2 in small intestine of rats with steatosis. **Sport Sciences for Health**, v. 18, n. 2, p. 491-497, 2022.

MOSTAFA, D. M. *et al.* Transdermal nanoemulsions of *Foeniculum vulgare* Mill. essential oil: Preparation, characterization and evaluation of antidiabetic potential. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 29, p. 99-106, 2015.

OKAMURA, M. *et al.* PXR functionally interacts with NF- κ B and AP-1 to downregulate the inflammation-induced expression of chemokine CXCL2 in mice. **Cells**, v. 9, n. 10, p. 2296, 2020.

PAVELA, R. *et al.* New knowledge for yield, composition and insecticidal activity of essential oils obtained from the aerial parts or seeds of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). **Industrial Crops and Products**, v. 83, p. 275-282, 2016.

PHO, C. *et al.* Using mathematical modeling to estimate time-independent cancer chemotherapy efficacy parameters. **In Silico Pharmacology**, v. 10, n. 1, p. 1-12, 2022.

QUEIROZ, A. C. *et al.* Antileishmanial activity of medicinal plants used in endemic areas in northeastern Brazil. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2014, 2014.

RAHIMI, R.; ARDEKANI, M. R. S. Medicinal properties of *Foeniculum vulgare* Mill. in traditional Iranian medicine and modern phytotherapy. **Chinese Journal of Integrative Medicine**, v. 19, n. 1, p. 73-79, 2013.

RATHER, M. A. *et al.* *Foeniculum vulgare*: A comprehensive review of its traditional use, phytochemistry, pharmacology, and safety. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 9, p. S1574-S1583, 2016.

RIBEIRO, V. P. *et al.* Brazilian medicinal plants with corroborated anti-inflammatory activities: a review. **Pharmaceutical Biology**, v. 56, n. 1, p. 253-268, 2018.

ROMANO, J. D.; TATONETTI, N. P. Informatics and computational methods in natural product drug discovery: A review and perspectives. **Frontiers in Genetics**, v. 10, p. 368, 2019.

SÁ-FILHO, G. F. *et al.* Plantas medicinais utilizadas na caatinga brasileira e o potencial terapêutico dos metabólitos secundários: uma revisão. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 13, p. e140101321096-e140101321096, 2021.

SAFRAN, M. *et al.* The GeneCards Suite. In: **Practical Guide to Life Science Databases**. Springer, Singapore, p. 27-56, 2021.

SANNER, M. F. Python: a programming language for software integration and development. **J Mol Graph Model**, v. 17, n. 1, p. 57-61, 1999.

SANNER, M. F.; STOFFLER, D.; OLSON, A. J. ViPEr, a visual programming environment for Python. **Proceedings of the 10th International Python conference**, p.103-115, 2002.

SANTOS, T. B. S. **Avaliação do potencial imunomodulador de moléculas relacionadas a inibição da arginase no tratamento da leishmaniose tegumentar**. 2019. 80 f. Dissertação (Mestrado em Patologia) – Universidade Federal da Bahia; Instituto Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, Salvador, 2019.

SEELIGER, D.; DE GROOT, B. L. Ligand docking and binding site analysis with PyMOL and Autodock/Vina. **Journal of computer-aided molecular design**, v. 24, n. 5, p. 417-422, 2010.

SEHGAL, S. A. *et al.* Current therapeutic molecules and targets in neurodegenerative diseases based on *in silico* drug design. **Current Neuropharmacology**, v. 16, n. 6, p. 649-663, 2018.

SHAROPOV, F. *et al.* Cytotoxicity of the essential oil of fennel (*Foeniculum vulgare*) from Tajikistan. **Foods**, v. 6, n. 9, p. 73, 2017.

SILVA, T. B. C. *et al.* Cytotoxic potential of selected medicinal plants in northeast Brazil. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 16, n. 1, 2016.

STUPACK, D. G. Caspase-8 as a therapeutic target in cancer. **Cancer letters**, v. 332, n. 2, p. 133-140, 2013.

SÜNTAR, I. Importance of ethnopharmacological studies in drug discovery: role of medicinal plants. **Phytochemistry Reviews**, p. 1-11, 2020.

SZKLARCZYK, D. *et al.* STITCH 5: augmenting protein–chemical interaction networks with tissue and affinity data. **Nucleic Acids Research**, v. 44, n. D1, p. D380-D384, 2016.

TEIXEIRA, M. P. *et al.* Ethnobotany and antioxidant evaluation of commercialized medicinal plants from the Brazilian Pampa. **Acta Botanica Brasilica**, v. 30, n. 1, p. 47-59, 2016.

WAKABAYASHI, K. A. L. *et al.* Anthelmintic effects of the essential oil of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill., Apiaceae) against *Schistosoma mansoni*. **Chemistry & Biodiversity**, v. 12, n. 7, p. 1105-1114, 2015.

YANG, H. *et al.* *In silico* prediction of chemical toxicity for drug design using machine learning methods and structural alerts. **Frontiers in Chemistry**, v. 6, p. 30, 2018.

YUAN, S.; CHAN, H. S.; HU, Z. Using PyMOL as a platform for computational drug design. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science**, v. 7, n. 2, p. e1298,

2017.

ZHANG, H. *et al.* RvD1 ameliorates LPS-induced acute lung injury via the suppression of neutrophil infiltration by reducing CXCL2 expression and release from resident alveolar macrophages. **International Immunopharmacology**, v. 76, p. 105877, 2019.