

## INTERAÇÃO DOS MONOTERPENOS DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Alpinia zerumbet* COM CAVEOLINAS: UM ESTUDO *in silico*

Giovanny Rodrigues Silva<sup>1</sup> (PIBIC/CNPq); Iasmim Lorena Silva dos Santos<sup>1</sup> (PROVIC/Unit); Laira Maria Matias Lisboa<sup>1</sup> (Mestranda); Edna Aragão Fárias Candidido<sup>1,2</sup> (Orientadora)  
giovanny.rodrigues@souunit.com.br;

<sup>1</sup>Universidade Tiradentes/Fisioterapia/Aracaju/SE.

<sup>2</sup>Instituto de Tecnologia e Pesquisa/Aracaju/SE.

2.00.00.00-6 - Ciências Biológicas; 2.08.00.00-2 – Bioquímica

### RESUMO

**Introdução:** A espasticidade muscular é uma desordem do controle sensório-motor resultante da lesão do primeiro motoneurônio, causando ativação muscular intermitente ou sustentada<sup>1</sup>. Essa condição é observada em doenças como traumatismo crânioencefálico, lesão medular e acidente vascular cerebral<sup>2</sup>. Quando não tratada, pode ser dolorosa, angustiante e uma causa potencial de incapacidade<sup>3</sup>. Diante disso, a fitoterapia surge como alternativa promissora, destacando-se o óleo essencial de *Alpinia zerumbet* (OEAz). Estudos relatam que o uso tópico do OEAz, associado à cinesioterapia, reduz a espasticidade e melhora o recrutamento muscular após dois a sete meses de tratamento<sup>4</sup>. Seus principais monoterpênos são o terpeno-4-ol, o 1,8-cineol (eucaliptol) e o  $\gamma$ -terpineno<sup>5</sup>. Esses compostos modulam canais de cálcio tipo L de maneira dose-dependente<sup>5,6</sup>. As caveolas, pequenas invaginações da membrana plasmática, participam da endocitose e transcitose<sup>7</sup>, e são formadas pelas caveolinas CaV1, CaV2 e CaV3. As proteínas CaV1.1, CaV1.2 e CaV1.3 são canais de cálcio tipo L essenciais para a função muscular e neuronal<sup>8,9,10</sup>. A docagem molecular é uma técnica computacional que permite prever a interação entre moléculas e proteínas, sendo amplamente utilizada no desenvolvimento de fármacos<sup>11,12</sup>. **Objetivo:** Validar a ação dos monoterpênos do óleo essencial de *Alpinia zerumbet* (terpeno-4-ol, eucaliptol e  $\gamma$ -terpineno) sobre alvos terapêuticos reconhecidos como caveolinas (CaV1.1, CaV1.2 e CaV1.3), por meio da docagem molecular. **Metodologia:** As folhas de *Alpinia zerumbet* foram coletadas no Biotério da Universidade Tiradentes, lavadas, secas e submetidas à hidrodestilação em aparelho de Clevenger para extração do óleo essencial. As estruturas das proteínas e compostos foram obtidas no Protein Data Bank e preparadas no programa PyMol, com adição de hidrogênios polares e cargas de Kollman. O programa AutoDockTools 1.5.7 definiu a área de ligação, e o AutoDock Vina realizou a docagem molecular. A análise e visualização tridimensional foram feitas no BIOVIA Discovery Studio. **Resultados:** As energias resultantes da docagem dos monoterpênos terpeno-4-ol, eucaliptol e  $\gamma$ -terpineno com as proteínas cristalizadas cav1.1, cav1.2 e cav1.3 variaram entre -5,0 kcal·mol e -6,2 kcal·mol. Energias de ligação inferiores a -5,0 kcal·mol<sup>-1</sup> indicam boa atividade de ligação<sup>13</sup>. Os monoterpênos apresentaram boas afinidades com as proteínas. A distância molecular é outro indicador importante de forças entre as interações de receptores e compostos. Quanto menor for a distância, maior pode ser a repulsão devido à sobreposição de elétrons. Enquanto em distâncias muito grandes, a força de interação tende a ser insignificante. Nas distâncias intermediárias surgem forças atrativas. As distâncias obtidas entre as docagens dos compostos supracitados resultaram em distâncias entre 5,96 Å e 3,39. Å representando interações estáveis e atrativas<sup>14</sup>. **Conclusão:** Esses resultados reforçam a importância das interações intermoleculares entre compostos bioativos do óleo essencial de *Alpinia zerumbet* e os canais de cálcio na regulação da musculatura espástica, contribuindo para o desenvolvimento de terapias fitoterápicas e novos fármacos seletivos.

**PALAVRAS-CHAVE:** Espasticidade muscular, docagem molecular, *Alpinia*.

**Agradecimentos:** O presente trabalho foi desenvolvido com o apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), por meio da concessão de bolsa de iniciação científica. Agradeço ao CNPq pelo incentivo à pesquisa e à formação científica.

## ABSTRACT

**Introduction:** Muscle spasticity is a sensory-motor control disorder resulting from upper motor neuron injury, causing intermittent or sustained muscle activation<sup>1</sup>. This condition is observed in diseases such as traumatic brain injury, spinal cord injury, and stroke<sup>2</sup>. When untreated, it can be painful, distressing, and a potential cause of disability<sup>3</sup>. In this context, phytotherapy emerges as a promising alternative, with emphasis on the essential oil of *Alpinia zerumbet* (EOAz). Studies report that the topical use of EOAz, associated with kinesiotherapy, reduces spasticity and improves muscle recruitment after two to seven months of treatment<sup>4</sup>. Its main monoterpenes are terpinen-4-ol, 1,8-cineole (eucalyptol), and  $\gamma$ -terpinene<sup>5</sup>. These compounds modulate L-type calcium channels in a dose-dependent manner<sup>5,6</sup>. Caveolae, small invaginations of the plasma membrane, participate in endocytosis and transcytosis<sup>7</sup> and are formed by caveolins CaV1, CaV2, and CaV3. The proteins CaV1.1, CaV1.2, and CaV1.3 are L-type calcium channels essential for muscular and neuronal function<sup>8,9,10</sup>. Molecular docking is a computational technique that allows the prediction of interactions between molecules and proteins, widely used in drug development<sup>11,12</sup>. **Objective:** To validate the action of the monoterpenes of *Alpinia zerumbet* essential oil (terpinen-4-ol, eucalyptol, and  $\gamma$ -terpinene) on therapeutic targets recognized as caveolins (CaV1.1, CaV1.2, and CaV1.3) through molecular docking. **Methodology:** The leaves of *Alpinia zerumbet* were collected from the Animal Facility of Universidade Tiradentes, washed, dried, and subjected to hydrodistillation using a Clevenger apparatus to extract the essential oil. The structures of the proteins and compounds were obtained from the Protein Data Bank and prepared in the PyMol software, with the addition of polar hydrogens and Kollman charges. The AutoDockTools 1.5.7 program defined the binding site, and AutoDock Vina performed the molecular docking. The three-dimensional analysis and visualization were conducted using BIOVIA Discovery Studio. **Results:** The binding energies resulting from the docking of the monoterpenes terpinen-4-ol, eucalyptol, and  $\gamma$ -terpinene with the crystallized proteins CaV1.1, CaV1.2, and CaV1.3 ranged from  $-5.0 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$  to  $-6.2 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ . Binding energies lower than  $-5.0 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$  indicate good binding activity<sup>13</sup>. The monoterpenes showed good affinity for the proteins. Molecular distance is another important indicator of the forces between receptor–compound interactions. The shorter the distance, the greater the potential repulsion due to electron overlaps, whereas at very large distances, the interaction force tends to be negligible. At intermediate distances, attractive forces arise. The distances obtained from the docking of the compounds ranged from 5.96 Å to 3.39 Å, representing stable and attractive interactions<sup>14</sup>. **Conclusion:** These results reinforce the importance of intermolecular interactions between bioactive compounds of *Alpinia zerumbet* essential oil and calcium channels in the regulation of spastic musculature, contributing to the development of phytotherapeutic treatments and new selective drugs.

**KEYWORDS:** Muscle spasticity, molecular docking, *Alpinia*.

**ACKNOWLEDGEMENTS:** This study was carried out with the support of the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq), through the granting of a scientific initiation scholarship. I thank CNPq for encouraging research and scientific training.

## REFERÊNCIAS/REFERENCES:

1. BILLINGTON, Z.; HENKE, A.; GATER, D. Spasticity Management after Spinal Cord Injury: The Here and Now. *Journal of Personalized Medicine*, v. 12, n. 5, p. 808, 2022.
2. GILL, R. *et al.* The Effect of Botulinum Neurotoxin-A (BoNT-A) on Muscle Strength in Adult-Onset Neurological Conditions with Focal Muscle Spasticity: A Systematic Review. *Toxins*, 8;16(8):347, 2024.
3. SUPUTTITADA, A. *et al.* Best Practice Guidelines for the Management of Patients with Post-Stroke Spasticity: A Modified Scoping Review. *Toxins*, 10;16(2):98, 2024.
4. CÂNDIDO, J. *et al.* Subacute and Chronic Treatment with Herbal Medicine Essential Oil the *Alpinia Zerumbet* Associated with Kinesiotherapy on Patient with Muscle Spasticity: Cases Series. *International Journal of Research Studies in Biosciences*, volume 5, edição 9, PP 1-6, 2017b.
5. CÂNDIDO, J. *et al.* INFLUENCE OF ALPINIA ZERUMBET ESSENTIAL OIL IN THE KINESIOTHERAPEUTIC TREATMENT OF PATIENTS WITH SYNDROME PYRAMIDAL. *International Journal of Development Research*, vol. 07, edição 10, pp.15837-15843, 2017a.
6. SANTOS, B.A. *et al.* Cardiodepressive effect elicited by the essential oil of *Alpinia speciosa* is related to L-type Ca<sup>2+</sup> current blockade. *Phytomedicine*, 18, 539-543, 2011.
7. MATTHAEUS, C.; TARASKA, J. Energy and Dynamics of Caveolae Trafficking. *Frontiers*, v. 8, n. 6, 2021.
8. GAO, S. Structural basis for human Cav1.2 inhibition by multiple drugs and the neurotoxin calciseptine, *Cell*, v. 186, n. 24, p. 5374-5374, 2023.
9. WU, J. *et al.* Structure of the voltage-gated calcium channel Ca(v)1.1 at 3.6 Å resolution, *Nature*, v. 537, n. 7619, p. 191-196, 2016.
10. YAO, X.; GAO, S.; YAN, N. Structural basis for pore blockade of human voltage-gated calcium channel Cav1.3 by motion sickness drug cinnarizine, *Cell Res*, v. 32, n. 10, p. 946-948, 2022.
11. CHEN, G.; SEUKEP, A. J.; GUO, M. Recent Advances in Molecular Docking for the Research and Discovery of Potential Marine Drugs. *Mar Drugs*, v. 18, n. 11, p. 545, 2020.

12. ZHANG, L.; HAN, L.; WANG, X.; WEI, Y.; ZHENG, J.; ZHAO, L.; TONG, X. Exploring the mechanisms underlying the therapeutic effect of *Salvia miltiorrhiza* in diabetic nephropathy using network pharmacology and molecular docking. *Bioscience Reports*, v. 41, n. 6, 2021.
13. WANG, *et al.* Study on the mechanism of Shujin Tongluo granules in treating cervical spondylosis based on network pharmacology and molecular docking. *Medicine*, 102(29):e34030, 2023.
14. SERIBELI, F.L.; MAXIMIANO, F. A. Conceitos fundamentais sobre energia de interação a partir de uma revisão bibliográfica do tema interações intermoleculares. *Revista Electrónica de Enseñanza de las Ciencias*, v. 21, n. 2, p. 260-285, 2022.