

# Estudio computacional de la reactividad y propiedades fisicoquímicas del eugenol, 2-metoxi-4-oxiranilmetilfenol y quinona metilada

Jhonatan Rabanal

Laboratorio de Bioinformática y Biología Molecular, Laboratorios de Investigación y Desarrollo, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Av. Honorio Delgado 403 SMP, Lima, Perú.

\*Correo electrónico: jhonatan.rabanal@upch.pe

Recibido para evaluación: 2 de octubre de 2018

Aceptado para publicación: 6 de marzo de 2019

## RESUMEN

El eugenol es un fenilpropanoide con potencial farmacológico, este estudio determinó teóricamente las propiedades fisicoquímicas del eugenol y derivados. Se encontró que estos cumplen con las reglas de cinco de Lipinski, lo que los posiciona como posibles fármacos. Asimismo, se estudió la reactividad de estas moléculas frente al citocromo P450 y en microorganismos aeróbicos. Utilizando programas de acceso libre se encontró que estas reacciones se dan, principalmente, en los átomos de carbono 1, 2, 3 y 7. Por último, se encontró una correlación entre el desplazamiento químico del  $^1\text{H}$  RMN y la energía de activación de los átomos de carbono.

*Palabras clave:* Eugenol, potencial farmacológico, propiedades fisicoquímicas, reactividad.

## SUMMARY

### Computational study of the reactivity and physicochemical properties of eugenol, 2-methoxy-4-oxiranylmethylphenol and methylated quinone

Eugenol is a phenylpropanoid with pharmacological potential, this study theoretically determined the physicochemical properties of eugenol and derivatives. It was found that they comply with the Lipinski's rule of five, which positions them as possible drugs. Likewise, the reactivity of these molecules against cytochrome P450 and in aerobic microorganisms was studied. Using free access software, it was found that these reactions occur mainly in the carbon atoms 1, 2, 3 and 7. Finally, a correlation was found between the chemical shift of  $^1\text{H}$  NMR and the activation energy of the carbon atoms.

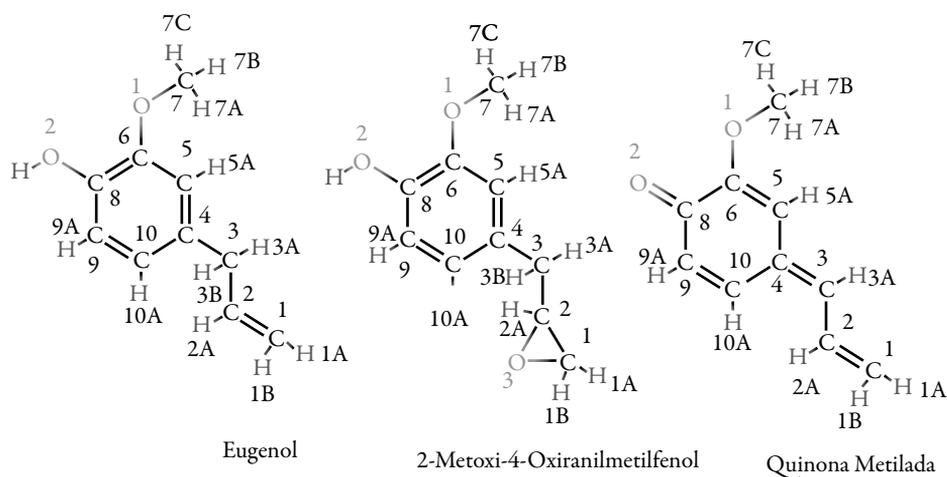
*Key words:* Eugenol, pharmacological potential, physicochemical properties, reactivity.

## INTRODUCCIÓN

A lo largo de la evolución, las plantas han desarrollado una serie de vías metabólicas para la producción de sustancias químicas, muchas de ellas ofrecen ventajas evolutivas. En este proceso, varias plantas desarrollaron la capacidad de biotransformar la fenilalanina en fenilpropanoides [1-2]. En este sentido, diversos estudios han demostrado la capacidad antiinflamatoria, antimicrobiana y citotóxica de diversos fenilpropanoides, como el cinamaldehído y el eugenol. Por lo que es imperativo que futuras investigaciones profundicen en estos aspectos, ya que esto permitiría encontrar nuevos enfoques terapéuticos [3].

Asimismo, diversos estudios demuestran que el eugenol posee actividad anti-inflamatoria, analgésica, antioxidante, antimicrobiana, antiparasitaria, anticancerígena y antifúngica. Por lo tanto, es de suma importancia estudiar el potencial farmacológico del eugenol [4-5].

Por otro lado, desde hace algunas décadas, se ha venido desarrollando la metodología de relaciones cuantitativas estructura-actividad (QSAR). La cual posee muchas aplicaciones en química médica, ya que a partir de la determinación teórica de determinadas propiedades fisicoquímicas es posible predecir el comportamiento de moléculas y con ello determinar si cumplen con la regla de cinco de Lipinski [6]. Consecuentemente, QSAR permitiría evaluar el potencial farmacológico del eugenol y derivados como quinona metilada (2-metoxi-4-alilideno-2,5-hexadieno-1-ona) [7] y 2-metoxi-4-oxiranilmetilfenol [8-9].



**Figura 1.** Estructura química del eugenol, 2-metoxi-4-oxiranilmetilfenol y quinona metilada.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Este estudio determinó las propiedades fisicoquímicas y reactividad del eugenol, quirona metilada (2-metoxi-4-alilideno-2,5-hexadieno-1-ona) y 2-metoxi-4-oxiranilmetilfenol (2M4F). Por lo que se realizó el siguiente procedimiento:

### Propiedades fisicoquímicas

Se utilizó el *software* ChemAxon [10-11] para la determinación de las siguientes propiedades fisicoquímicas: área de la superficie topológica polarizada (TPSA), refractividad molar, constante de disociación ácida (pKa), punto isoeléctrico, coeficiente de reparto (Log P), número de donantes y aceptores de hidrógeno, fracción de carbonos saturados en  $sp^3$  (FSP3), volumen de van der Waals y área superficial de van der Waals.

Se determinó el desplazamiento químico del  $^1\text{H}$  RMN, utilizando el *software* predictor 1D  $^1\text{H}$  NMR spectra [12].

Además, se utilizó el método de Joback [13-14] para la determinación de la energía libre de Gibbs de formación en condiciones estándar de reacción ( $\Delta_f G^\circ$ ), los cálculos fueron realizados utilizando la plataforma virtual Cheméo.

### Reactividad

Se utilizó el *software* SMARTCyp versión 4.2.2 [15] para la determinación de la energía de activación y área de superficie accesible por solvente (SASA), de átomos de carbono frente al CYP2C (isoenzima del citocromo P450).

Para el estudio de la reactividad del eugenol y derivados se utilizó el *software* EAWAG-BBD, el cual puede predecir reacciones catabólicas en microorganismos aeróbicos. Dicho *software* reconoce grupos funcionales y predice las reacciones metabólicas más probables [16].

### Análisis estadístico

Se determinó el coeficiente de correlación de Spearman de las siguientes variables:

- El desplazamiento químico del  $^1\text{H}$  RMN (variable independiente) y la energía de activación de átomos de carbono (variable dependiente).
- El desplazamiento químico del  $^1\text{H}$  RMN (variable independiente) y el SASA de átomos de carbono (variable dependiente).

Si dos o más átomos de hidrógeno unidos a un mismo carbono presentan valores distintos, se calculará una media aritmética y este resultado se usará para calcular el coeficiente de correlación.

Para el cálculo del coeficiente de correlación se usará el *software* STATA versión 15.

## RESULTADOS

En la tabla 1 se puede observar los resultados obtenidos de las propiedades fisicoquímicas del eugenol y sus derivados; mientras en la tabla 2, el pKa del grupo alcohol del eugenol y 2-metoxi-4-oxiranilmetilfenol.

**Tabla 1.** Propiedades fisicoquímicas del eugenol, 2-metoxi-4-oxiranilmetilfenol y quinona metilada.

	Eugenol	2-metoxi-4-oxiranilmetilfenol	Quinona metilada
FSP3	0,20	0,40	0,10
TPSA	29,46 Å <sup>2</sup>	41,99 Å <sup>2</sup>	26,30 Å <sup>2</sup>
Refractividad molar	48,79 cm <sup>3</sup> /mol	48,53 cm <sup>3</sup> /mol	51,80 cm <sup>3</sup> /mol
Donantes de hidrógeno	1	1	0
Aceptores de hidrógeno	2	3	2
Punto isoeléctrico	2,52	3,06	---
Log <i>P</i>	2,61	1,56	1,54
Volumen de van der Waals	159,93 Å <sup>3</sup>	164,89 Å <sup>3</sup>	150,99 Å <sup>3</sup>
Área superficial de van der Waals	257,87 Å <sup>2</sup>	278,72 Å <sup>2</sup>	206,55 Å <sup>2</sup>
Δ <sub>f</sub> G°	-35,68 kJ/mol	-148,89 kJ/mol	21,48 kJ/mol

**Tabla 2.** pKa de los grupos químicos ionizables.

Grupos químicos	Eugenol	2-metoxi4-oxiranilmetilfenol
-OH (2)	9,94	10,16

En la tabla 3 puede observarse el desplazamiento químico del <sup>1</sup>H RMN del eugenol y de los derivados.

**Tabla 3.** Desplazamiento químico del  $^1\text{H}$  RMN.

Átomo de hidrógeno	Eugenol (ppm)	2-metoxi-4-oxiranilmetilfenol (ppm)	Quinona metilada (ppm)
1A	4,85	3,06	5,12
1B	4,85	3,11	4,99
2A	5,69	3,23	6,20
3A	3,13	2,86	6,21
3B	3,13	2,86	-----
5A	6,59	6,58	6,86
7A	3,78	3,78	3,91
7B	3,78	3,78	3,91
7C	3,78	3,78	3,91
9A	6,63	6,63	6,85
10A	6,53	6,58	7,53

De otro lado, en la tabla 4 se muestra la energía de activación de cada átomo de carbono frente al CYP2C, del eugenol y derivados. De la misma manera, en las tablas 5 puede observarse el SASA.

**Tabla 4.** Energía de activación de átomos de carbono frente a CYP2C.

Átomo de carbono	Eugenol (kJ/mol)	2-metoxi-4-oxiranilmetilfenol (kJ/mol)	Quinona metilada (kJ/mol)
1	65,6	75,9	40,1
2	65,6	75,9	80,8
3	59,9	66,4	80,8
4	999	999	999
5	77,2	77,2	80,8
6	999	999	999
7	62,2	62,2	62,2
8	999	999	999
9	77,2	77,2	80,8
10	74,1	74,1	80,8

**Tabla 5.** Área de superficie accesible por solvente (SASA) de átomos de carbono frente al CYP2C.

Átomo de carbono	Eugenol (Å <sup>2</sup> )	2-metoxi4-oxiranilmetilfenol (Å <sup>2</sup> )	Quinona metilada (Å <sup>2</sup> )
1	62,46	52,42	61,01
2	29,01	17,76	28,21
3	28,14	28,04	22,92
4	4,06	3,67	5,82
5	23,39	22,57	22,90
6	5,19	5,19	7,09
7	64,33	64,33	65,80
8	6,22	6,22	7,49
9	28,6	28,6	28,09
10	27,46	26,64	26,97

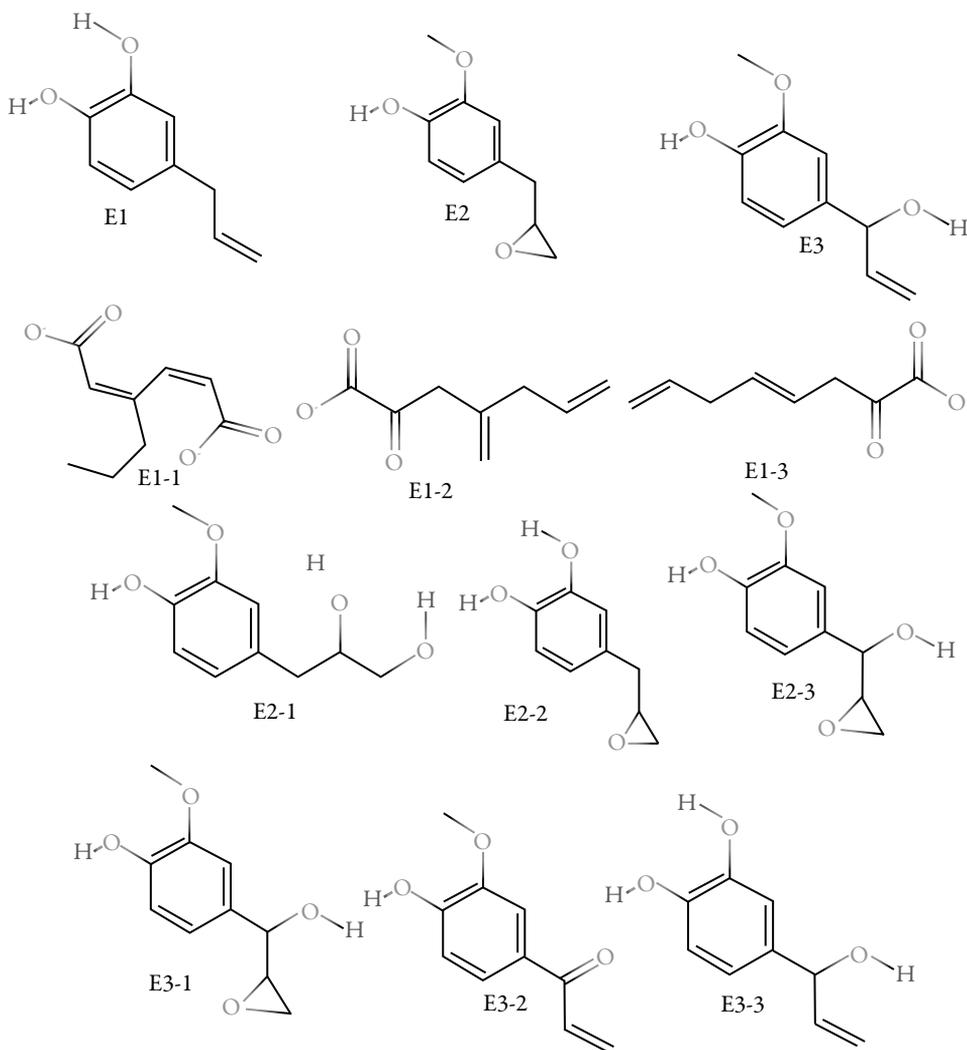
Por otra parte, en la figura 2 se puede apreciar los compuestos producto del catabolismo del eugenol, predicho por el *software* EWAG-BBD. Los compuestos E1, E2 y E3 son los productos de la primera etapa del catabolismo. Los compuestos E1-1, E1-2 y E1-3 son los productos del catabolismo del compuesto E1; igualmente, los compuestos E2-1, E2-2 y E2-3 son derivados del compuesto E2, y los compuestos E3-1, E3-2 y E3-3 derivan del compuesto E3.

En la tabla 6 están consignadas las reacciones predichas por el *software* EWAG-BBD para eugenol y derivados.

**Tabla 6.** Reacciones catabólicas del eugenol, 2-metoxi-4-oxiranilmetilfenol y quinona metilada.

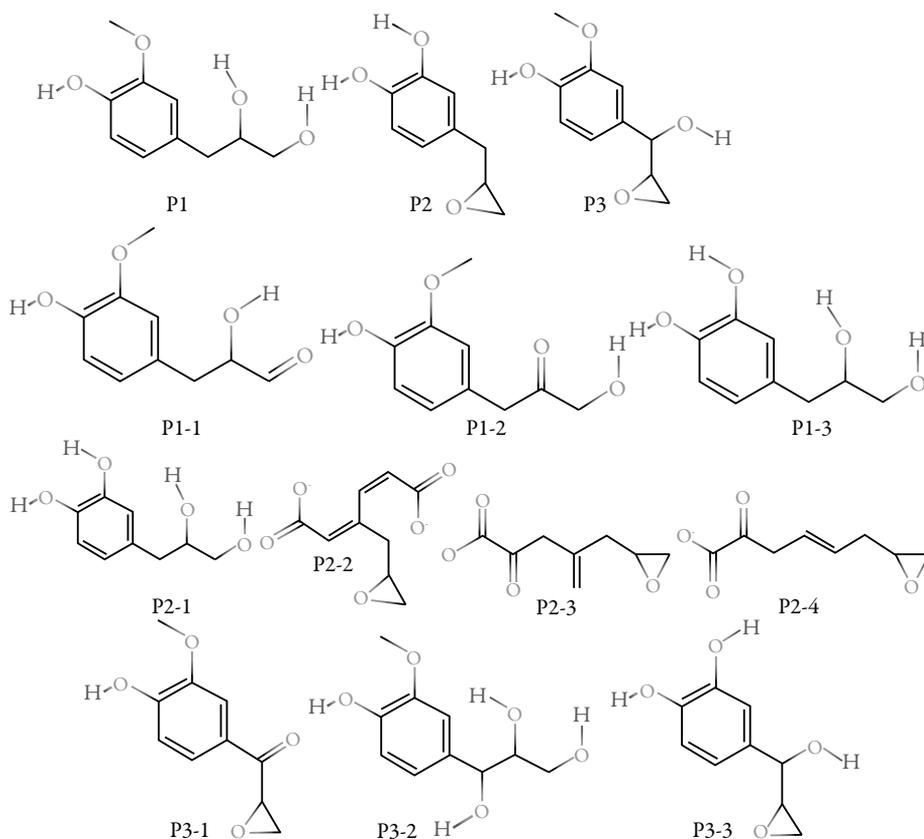
Eugenol	2-metoxi4-oxiranilmetilfenol	Quinona metilada
O-desalquilación en el carbono 7 (E1)	O-desalquilación en el carbono 7 (P2)	O-desalquilación en el carbono 7 (Q1)
Epoxidación del grupo alqueno (E2)	Apertura del anillo epóxido (P1)	Epoxidación del grupo alqueno de los carbonos 1 y 2 (Q2)
Hidroxilación en el carbono 3 (E3)	Hidroxilación en el carbono 3 (P3)	Transferencia de un átomo de oxígeno, formándose un grupo éter entre los carbonos 6 y 8 (Q3)

Entre paréntesis, el símbolo asignado por este estudio para cada compuesto.



**Figura 2.** Productos del catabolismo del eugenol.

En la figura 3 se puede apreciar los compuestos producto del catabolismo del 2M4F, predicho por el *software* EWAG-BBD. Los compuestos P1, P2 y P3 son los productos de la primera etapa del catabolismo. De la misma manera, los compuestos P1-1, P1-2 y P1-3 son los productos del catabolismo del compuesto P1; los compuestos P2-1, P2-2 y P2-3 son derivados del compuesto P2, y los compuestos P3-1, P3-2 y P3-3 derivan del compuesto P3.



**Figura 3.** Productos del catabolismo del 2-metoxi-4-oxiranilmetilfenol.

En la tabla 7 están las reacciones predichas por el *software* EWAG-BBD, de los compuestos E1, E2 y E3. Mientras en la tabla 8, las reacciones predichas por el *software* EWAG-BBD, de 2M4F.

**Tabla 7.** Reacciones catabólicas de compuestos E1, E2 y E3 (puede observarse entre paréntesis el producto de cada reacción).

Compuesto E1	Compuesto E2	Compuesto E3
Escisión del anillo aromático, transferencia de dos átomos de oxígeno a los carbonos 6 y 8, oxidación de los grupos hidroxilo (E1-1)	Apertura del anillo epóxido (E2-1)	Epoxidación del grupo alqueno (E3-1)

(Continúa)

**Tabla 7.** Reacciones catabólicas de compuestos E1, E2 y E3 (puede observarse entre paréntesis el producto de cada reacción).

Compuesto E1	Compuesto E2	Compuesto E3
Escisión del anillo aromático, transferencia de un átomo de oxígeno al carbono 8, oxidación de los grupos hidroxilo, pérdida de un grupo vinilo (carbono 9) (E1-2)	O-desalquilación en el carbono 7 (E2-2)	O-desalquilación en el carbono 7 (E3-3)
Escisión del anillo aromático, transferencia de un átomo de oxígeno al carbono 6, oxidación de los grupos hidroxilo, pérdida de un grupo vinilo (carbono 5) (E1-3)	Hidroxilación en el carbono 2 (E2-3)	Oxidación del grupo hidroxilo unido al carbono 3 (E3-2)

Entre paréntesis, el símbolo asignado por este estudio para cada compuesto.

**Tabla 8.** Reacciones catabólicas de compuestos derivados de 2-metoxi-4-oxiranilmetilfenol.

Compuesto P1	Compuesto P2	Compuesto P3
Oxidación del grupo hidroxilo unido al carbono 1 (P1-1)	Apertura del anillo epóxido (P2-1)	Apertura del anillo epóxido (P3-2)
Oxidación del grupo hidroxilo unido al carbono 2 (P1-2)	Escisión del anillo aromático, transferencia de dos átomos de oxígeno a los carbonos 6 y 8, oxidación de los grupos hidroxilo (P2-2)	Oxidación del grupo hidroxilo unido al carbono 3 (P3-1)
O-desalquilación en el carbono 7 (P1-3)	Escisión del anillo aromático, transferencia de un átomo de oxígeno al carbono 8, oxidación de los grupos hidroxilo, pérdida de un grupo vinilo (carbono 9) (P2-3)	O-desalquilación en el carbono 7 (P3-3)
	Escisión del anillo aromático, transferencia de un átomo de oxígeno al carbono 6, oxidación de los grupos hidroxilo, pérdida de un grupo vinilo (carbono 5) (P2-4)	

Entre paréntesis, el símbolo asignado por este estudio para cada compuesto.

De otro lado, en la figura 4 se pueden apreciar los compuestos productos del catabolismo de quinona metilada, predichos por el *software* EWAG-BBD. Los compuestos Q1, Q2 y Q3, son los productos de la primera etapa del catabolismo. El compuesto Q1-1 es producto del catabolismo del compuesto Q1; en ese sentido, los compuestos Q2-1, Q2-2 y Q2-3 derivan del compuesto Q2, y los compuestos Q3-1, Q3-2 y Q3-3, del compuesto Q3.

En la tabla 9 se observan las reacciones predichas por el *software* EWAG-BBD de los compuestos Q1, Q2 y Q3.

**Tabla 9.** Reacciones catabólicas de compuestos derivados de quinona metilada.

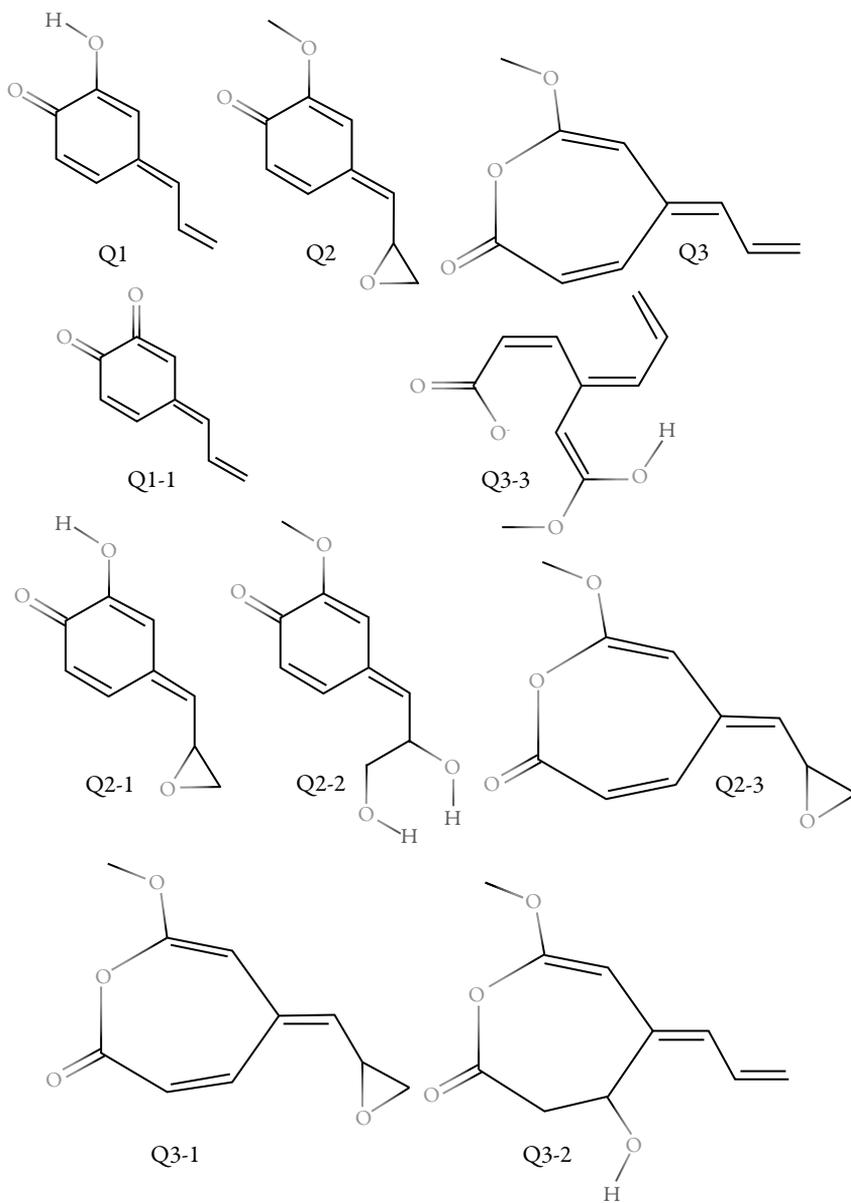
Compuesto Q1	Compuesto Q2	Compuesto Q3
Oxidación del grupo hidroxilo (Q1-1)	O-desalquilación en el carbono 7 (Q2-1)	Epoxidación del grupo alqueno de los carbonos 1 y 2 (Q3-1)
	Apertura del anillo epóxido (Q2-2).	Hidroxilación en el carbono 10 (Q3-2).
	Transferencia de un átomo de oxígeno, formándose un grupo éter entre los carbonos 6 y 8 (Q2-3)	Escisión del anillo aromático, transferencia de un átomo de oxígeno al carbono 8 (Q3-3)

Entre paréntesis, el símbolo asignado por este estudio para cada compuesto.

Finalmente, en la tabla 10 se presentan los resultados del coeficiente de correlación de Spearman. Podemos observar que existe una correlación lineal positiva entre el desplazamiento químico del  $^1\text{H}$  RMN y la energía de activación de átomos de carbono; asimismo, esta correlación es estadísticamente significativa ( $p < 0,05$ ) con un nivel de confianza del 95%. Además, se halló una correlación lineal negativa entre el desplazamiento químico del  $^1\text{H}$  RMN y el SASA de átomos de carbono; sin embargo, esta correlación no es estadísticamente significativa ( $p > 0,05$ ) con un nivel de confianza del 95%.

**Tabla 10.** Coeficiente de correlación de Spearman.

	RMN-energía de activación	RMN-SASA
Coefficiente de correlación de Spearman	0,71	-0,37
$\rho$ -valor	0,0003	0,09



**Figura 4.** Productos del catabolismo de quinona metilada.

## DISCUSIÓN

Los resultados presentados en la tabla 1 y 2 indican que el eugenol y derivados cumplen con la regla de cinco de Lipinski, esto guarda relación con lo esperado. Ya que un estudio previo encontró resultados similares utilizando otros programas [7]. Por tanto, estos valores posicionan al eugenol y derivados como posibles fármacos. Esto debido a que poseen menos de 5 donantes de hidrógeno, sus masas molares son menores a 500 Daltons,  $\log P$  menor a 5, tienen más de 10 enlaces rotativos y no poseen más de 10 átomos de nitrógeno y oxígeno. Por tanto tienen una buena bioabsorción y la capacidad para penetrar membranas biológicas.

Además, los resultados de  $\Delta_r G^\circ$  indican que el eugenol y 2-metoxi-4-oxiranilmetilfenol (2M4F) poseen valores negativos, lo que indica que las reacciones que los generan son termodinámicamente favorables [17]. Sin embargo, el método de Joback presenta una serie de limitaciones, pues este método simplifica la estructura molecular; los cálculos también se realizan considerando que las reacciones se llevan a cabo a 25°C, 1 atm y 1 molar de concentración de cada reactivo. Por lo que estos resultados deben comprobarse experimentalmente [13-14].

En la tabla 3 puede verse el desplazamiento químico del  $^1\text{H}$  RMN del eugenol y derivados. Se encontraron valores más altos en átomos de hidrógeno unidos a enlaces doble carbono-carbono, esto debido a los enlaces  $\pi$  ( $\pi$ ) [17]. De otro lado, los resultados presentados en la tabla 4 indican que los carbonos 1, 2, 3 y 7 del eugenol y 2M4F presentan menor energía de activación, de la misma forma, los carbonos 1 y 7 de quinona metilada presentan menor energía de activación. Esto indica que dichos carbonos podrían ser blanco de reacciones químicas catalizadas por el CYP2C [15].

Asimismo, los resultados de la tabla 5 indican que los carbonos 1 y 7 del eugenol y derivados, presentan un SASA más alto, lo que permitiría que estos carbonos participen en reacciones químicas catalizadas por el CYP2C [15]. Los resultados de las tablas 4 y 5 también indican que en los carbonos 4, 6 y 8 es menos probable que se dé una reacción catalizada por el CYP2C [15].

En una investigación previa se estudió el metabolismo del eugenol mediado por el citocromo P450, encontrando que los carbonos 1 y 2 son susceptibles a la epoxidación, el carbono 3 a la hidroxilación y el carbono 7 a la o-desalquilación [7].

Como podemos observar el catabolismo del eugenol y 2M4F en microorganismos aeróbicos, se da principalmente en los carbonos 1, 2, 3 y 7; estos resultados son similares a los encontrados en el metabolismo catalizado por CYP2C. Además, se encontró que en quinona metilada las reacciones catabólicas se dan en los carbonos 1, 2 y 7.

Este estudio propone que la correlación entre el desplazamiento químico del  $^1\text{H}$  RMN y la energía de activación de los átomos de carbono podría deberse a la manera en que los aminoácidos y el grupo prostético del centro activo del citocromo P450 interactúan con los átomos de carbono del eugenol y derivados. Esta interacción sería similar a la forma en como los núcleos atómicos del hidrógeno interactúan con un campo magnético externo (como el RMN).

## CONCLUSIONES

El eugenol y derivados (2-metoxi-4-oxiranilmetilfenol y quinona metilada) poseen propiedades fisicoquímicas que los posicionan como candidatos a nuevos fármacos. Asimismo, pueden ser metabolizados por el citocromo P450, siendo este metabolismo similar al observado en bacterias aeróbicas.

Por último, existe una correlación lineal positiva entre el desplazamiento químico del  $^1\text{H}$  RMN y la energía de activación de átomos de carbono.

## AGRADECIMIENTOS

Esta investigación fue financiada con un aporte de FONDECYT-CONCYTEC.

## CONFLICTO DE INTERÉS

El autor declara no tener conflictos de interés.

## REFERENCIAS

1. J.P. Noel, M.B. Austin, E.K. Bomati, Structure-function relationships in plant phenylpropanoid biosynthesis, *Curr. Opin. Plant. Biol.*, **8**, 249-253 (2005).
2. U.K. Sharma, A.K. Sharma, A.K. Pandey, Medicinal attributes of major phenylpropanoids present in cinnamon, *BMC Complement. Altern. Med.*, **16**, 156 (2016).
3. A.K. Pandey, A.K. Mishra, A. Mishra, Antifungal and antioxidative potential of oil and extracts derived from leaves of Indian spice plant *Cinnamomum tamala*, *Cell Mol. Biol.*, **58**, 142-147 (2012).

4. M.R. Charan-Raja, V. Srinivasan, S. Selvaraj, S.K. Mahapatra, Versatile and synergistic potential of eugenol: A Review, *Pharm. Anal. Acta*, **6**, 367-372 (2015).
5. X. Kong, X. Liu, J. Li, Y. Yang, Advances in pharmacological research of eugenol, *Curr. Opin. Complement. Alternat. Med.*, **1**, 8-11 (2014).
6. A. Cherkasov, E.N. Muratov, D. Fourches *et al.*, QSAR Modeling: Where have you been? Where are you going to? *J. Med. Chem.*, **57**, 4977-5010 (2014).
7. A. Absalan, S.A. Mesbah-Namin, T. Tiraihi, T. Taheri, The effects of cinnamaldehyde and eugenol on human adipose-derived mesenchymal stem cells viability, growth and differentiation: a cheminformatics and *in vitro* study, *Avicenna J. Phytomed.*, **6**, 643-657 (2016).
8. J.L. Bolton, Quinone methide bioactivation Pathway: Contribution to toxicity and/or cytoprotection? *Curr. Org. Chem.*, **18**, 61-69 (2014).
9. G. Luo, T.M. Guenther, Investigation of the role of the 2,3-epoxidation pathway in the bioactivation and genotoxicity of dietary allylbenzene analogs, *Toxicology*, **160**, 47-58 (2001).
10. C. Southan, A. Stracz, Extracting and connecting chemical structures from text sources using chemicalize.org, *J. Cheminform.*, **5**, 20 (2013).
11. D. Fourches, E. Muratov, A. Tropsha, Trust, but verify: On the importance of chemical structure curation in cheminformatics and QSAR modeling research, *J. Chem. Inf. Model.*, **50**, 1189-1204 (2010).
12. D. Banfi, L. Patiny, Resurrecting and Processing NMR Spectra On-line, *Chimia*, **62**, 280-281 (2008).
13. L.N. Fierro, C.A. Faúndez, J.O. Valderrama, Método de contribución de grupos: una herramienta fundamental en cursos avanzados de termodinámica y física de fluidos para la estimación de propiedades de sustancias, *Formación Universitaria*, **9**, 99-108 (2016).
14. L. Constantinou, R. Gani, New group contribution method for estimating properties of pure compounds, *AIChEJ*, **40**, 1697-1710 (1994).
15. J.L. Kingsley, G.L. Wilson, E.M. Essex, A.L. Markus, Combining structure and ligand based approaches to improve site of metabolism prediction in CYP2C9 substrates, *Pharm. Res.*, **32**, 986-1001 (2015).

16. S. Sivakumar, P. Anitha, B. Ramesh, G. Suresh, Analysis of EAWAG-BBD pathway prediction system for the identification of malathion degrading microbes, *Bioinformation*, **13**, 73-77 (2017).
17. R. Chang, *Fisicoquímica*, México, Mc Graw Hill, 3ª ed., 2008.

### CÓMO CITAR ESTE ARTÍCULO

J. Rabanal, Estudio computacional de la reactividad y propiedades fisicoquímicas del eugenol, 2-metoxi-4-oxiranilmetilfenol y quinona metilada, *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.*, **48**(2), 245-259 (2019).