DOCKING MOLECULAR DE DERIVADOS DA CHALCONA COMO AGENTE COM POTENCIAL ATIVADOR DA TIROSINASE

Adriana Gomes Pereira da Silva[1], Daniely Alves de Souza[1], Felicia Megumi Ito[2], Gleison Nunes Jardim[1]
[1]Instituto Federal de Mato Grosso do Sul– *Campus* Coxim
[2]CMCG - (Colégio Militar de Campo Grande, MS)
adrianapereiratecnologa@gmail.com, alvesdanielysouza@gmail.com, felicia.ito@gmail.com, gleison.jardim@ifms.edu.br

Resumo

O processo de desenvolvimento de novos fármacos é complexo, longo, de alto custo e um desafio para pesquisadores. A química medicinal tem um papel importante no processo de descoberta de novos fármacos. Inicialmente, o alvo molecular selecionado é fundamental devido as razões que englobam desde o processo fisiológico em estudo até a do impacto no tratamento ou cura da doença ou disfunções em humanos. Para isso é necessário aplicar metodologias como a realização de estudos *in Silico* (docagem molecular) uma vez que permite a avaliação prévia do perfil farmacocinético e das propriedades das candidatas ao desenvolvimento de agentes bioativos. Neste contexto, resolvemos estudar os chalcona sintetizados em trabalho anterior com o uso inicial de tecnologia (Docking molecular custo, benefício, tempo em relação à atividade biológica com o objetivo de realizar o docking molecular entre a enzima tirosinase como alvo molecular e a chalcona.

Palavras-chave: Molecular, Chalcona, Fármacos.

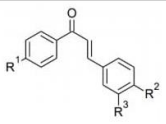
Introdução

O uso do medicamento pela população tem mostrado várias impressões sobre o mesmo. Uma delas é que podem aumentar a expectativa de vida das pessoas, tratar de enfermidades, aliando assim aos benefícios econômicos. A descoberta de novos medicamentos está relacionada às inovações científicas e tecnológicas. Essas formulações tornaram-se possíveis graças aos avanços significativos na área da química e biologia com o conhecimento de rotas bioquímicas e fisiológicas, alvos moleculares e de mecanismos que levam a descoberta da cura e tratamento de doenças.

Com o processo da descoberta de fármaco, há uma grande divisão em fases. A primeira fase consiste na descoberta da substância com atividade terapêutica. Já a outra fase, são as atividades in vitro para avaliação das condições biológicas das moléculas e os bioensaios in vivo para estudar o metabolismo e investigando a farmacodinâmica nos animais, que é conhecido como fase pré-clínico. Depois de todo o protocolo se atuar de forma positiva, são realizados os estudos clínicos em humanos, também denominado de fase clínica. O processo de pesquisa e desenvolvimento (P&D) de fármacos é economicamente caro, demorado.

A docagem molecular ou docking molecular é baseada em estruturas que são capazes de se ligar ao alvo molecular. Esta técnica computacional está relacionada a identificação de novas entidades através de abordagens por triagem virtual que une o algoritmo da busca conformacional e uma pontuação. O algoritmo de busca é capaz de explorar todas as possíveis orientações e conformações de uma pequena molécula dentro do local de ligação referente ao alvo. O alvo molecular explora o espaço conformacional de ligantes flexíveis, enquanto a estrutura proteica se fixa (dependendo do método empregado), nesta exploração cada conformação que o ligante quando está ligado a proteína é chamada de hit. A cada pose é dado um valor referente pontuação. A função de pontuação representa um método matemático aproximado usado para avaliar as forças de interações entre o ligante e a proteína alvo (TROTT & OLSON, 2010). Durante a triagem virtual é comum usar a função de pontuação para selecionar os melhores candidatos para ensaios bioquímicos (GUO et al., 2004).

As chalconas podem ser definidas como cetonas α(alfa),β(beta)-insaturadas, onde tanto a carbonila quanto a porção olefínica estão ligadas a grupamentos aromáticos. São moléculas que apresentam cadeia aberta apresentam o núcleo 1,3- diarilprop-2 esqueleto com seis carbonos/três carbonos/ seis carbonos {C6-C3-C6}, considerado privilegiado no desenho de fármacos como mostra a Figura 1 (PENG, 2009).



3a) $R^1=R^2=R^3=$ -H
3b) $R^1=R^2=$ -H; $R^2=$ -$N(CH_3)_2$
3c) $R^1=$ -H; $R^2=R^3=$ -Cl
3d) $R^1=$ -H; $R^2=$ -OH; $R^3=$ -OMe
3e) $R^1=$ -OMe; $R^2=R^3=$ -H
3f) $R^1=$ -OMe; $R^2=$ -H; $R^2=$ -$N(CH_3)_2$
3g) $R^1=$ -OMe; $R^2=R^3=$ -Cl
3h) $R^1=$ -OMe; $R^2=$ -OH; $R^3=$ -OMe

Derivado da chalcona	Característica	Rendimento (%)	P.F (°C)
3a)	Sólido amarelo pálido	70	46-50
3b)	Sólido laranja brilhante	80	123-126
3c)	Sólido marrom escuro	60	174-180
3d)	Óleo marrom	50	---
3e)	Sólido amarelo claro brilhante	90	98-101
3f)	Sólido laranja opaco	70	155-157
3g)	Sólido amarelo pálido	70	130-138
3h)	Óleo marrom escuro	50	---

Figura 1. Derivados da chalcona
Fonte: arquivo pessoal, 2019.

A tirosinase é uma enzima oxidase, multifuncional, glicosilada e que contém cobre, podendo ser encontrada em animais, plantas e fungos (Gençer, 2012; Saewan, 2011). O cobre presente na estrutura da tirosinase faz parte do sítio ativo da enzima e é papel fundamental para a sua atividade

(AZULAY-ABULAFIA et al. 2007). A tirosinase catalisa duas reações: a hidroxilação de monofenóis, e a oxidação de difenóis (Kim, 2002; Saewan, 2011). Na formação de melanina, podem ser encontrados três tipos diferentes de tirosinase (met-tirosinase, oxi-tirosinase e desoxi-tirosinase), e cada tipo apresentando uma coordenação diferente para o cobre (cobre (II) para a mettirosinase e oxi-tirosinase e cobre (I) para a desoxi-tirosinase) (Kim, 2005).

A busca por inibidores da tirosinase é comum na literatura e com ampla aplicabilidade e benefícios tanto em fármacos quantos em alimentos, mas os ativadores da enzima podem também ser de grande importância, já que aumentam sua atividade catalítica (Seo, 2003). Os mecanismos de ativação da enzima potencializam a síntese de melanina e dessa forma, ativadores podem ser utilizados no combate ao vitiligo (Guan, 2008).

Metodologia

Os procedimentos foram realizados em *in Silico*. Tal processo estabelece o uso de recursos computacionais para realização do Docking molecular utilizando os derivados da chalcona como agente com potencial ativador da tirosinase. Os derivados da chalcona em estudo foram baseados nas sintetizadas em trabalho anterior (ID506).

Para o docking, é preciso a estrutura tridimensional do receptor e do ligante em formato PDB (Protein Data Bank) https://www.rcsb.org/. Para a realização do Doking molecular foi utilizado a plataforma Tools http://mgltools.scripps.edu/downloads/downloads/tars/releases/REL1.5.6/mgltools_win32_1.5.6_Setup.exe. A Interação entre receptor e fármaco realizada com a utilização de ferramenta de bioinformática que propicia o docking molecular. Nos estudos *in silico*, tanto os participantes (alvos e fármacos) quanto o ambiente (corpo humano) são simulados.

O docking molecular depende, basicamente, de dois métodos: I - um campo de força para estimar a energia livre de ligação do complexo, II - Um método de pesquisa para explorar o espaço conformacional disponível para o ligante e o alvo. Para a modelagem da enzima foi utilizada a proteína alvo (tirosinase) disponível no banco de dados PDB. Para os estudos de docking molecular receptor-ligante, foi definido um grid para os cálculos de energia para a enzima escolhida como alvo.

Resultados e discussão

A partir as moléculas sintetizadas em trabalho anterior (**id506:** síntese de cetonas α,β-insaturadas aromáticas e seus derivados com potencial atividade biológica. **Pl01:** estudos de metdologia sintética para obtenção de chalconas; **pl02:** síntese de chalconas e seus derivados com potencial atividade biológica) foram escolhidas as moléculas (ligante) de estudo para docagem molecular. Neste trabalho foram selecionadas a chalcona **3a** e o seu derivado **3c** para estudo (tabela 1).

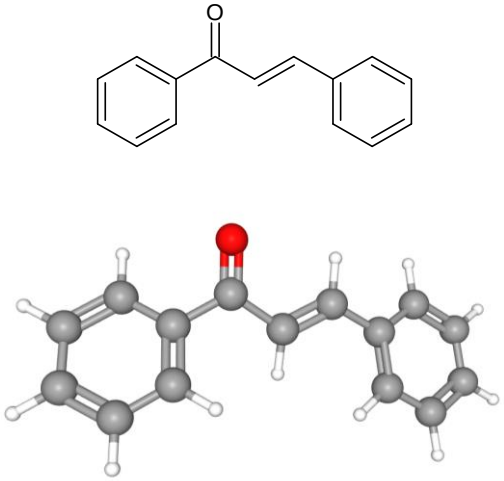


Figura 2. Estrutura 2D (acima) e 3D (abaixo) da molécula (*E*)-1,3-diphenylprop-2-en-1-one (**3a**).
Fonte:https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5712114

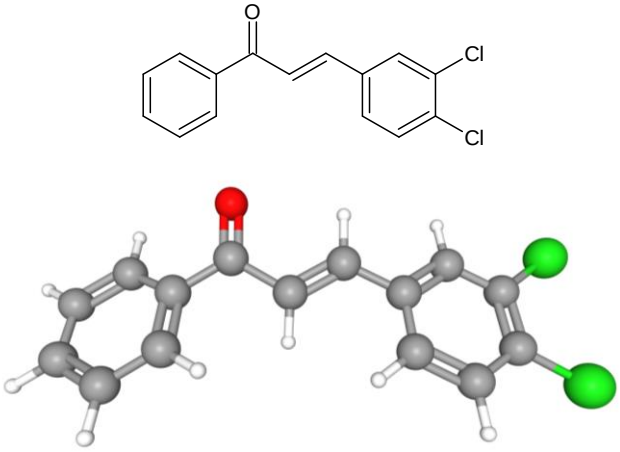


Figura 3. Estrtura 2D (acima) e 3D (abaixo) da molécula (E)-3-(3,4-Dichlorophenyl)-1-phenylprop-2-en-1-one (**3c**).
Fonte:https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5712114
.

Em seguida, a estrutura do receptor, a proteína tirosinase (1wx2) foi feita a busca no Protein Data Base (PDB) do National Center of Biotechnology Information (NCBI) (http://www.rcsb.org/) com o código do PDB 1WX2.pdb. A imagem da proteína foi visualizada no software PyMol como é mostrada na figura 4.

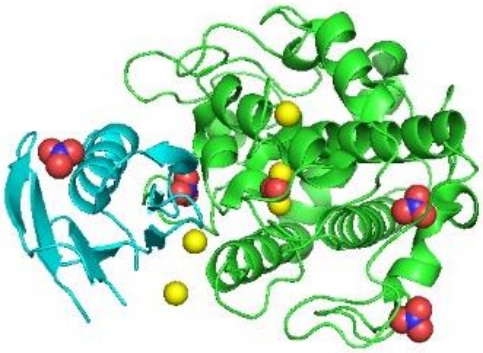


Figura 4. Estrutura da proteína tirosinase (1wx2.pdb) e visualizada no PyMol para estudo átomo de Cu em amarelo; O_2 no centro junto ao Cu; NO_3^{-2} molécula em azul e vermelho. Fonte: https://www.rcsb.org/structure/1wx2.

A simulação *in Silico* utilizando o AutodockTools forneceram dados informativos em que a chalcona induz os resíduos do bolso do sítio ativo, afetando diretamente ao acoplamento do ligante, induzindo algumas modificações estruturais na tyrosinase. Dessa forma, há uma necessidade de estudos mais detalhados de dinâmica molecular do ligante como da proteína.

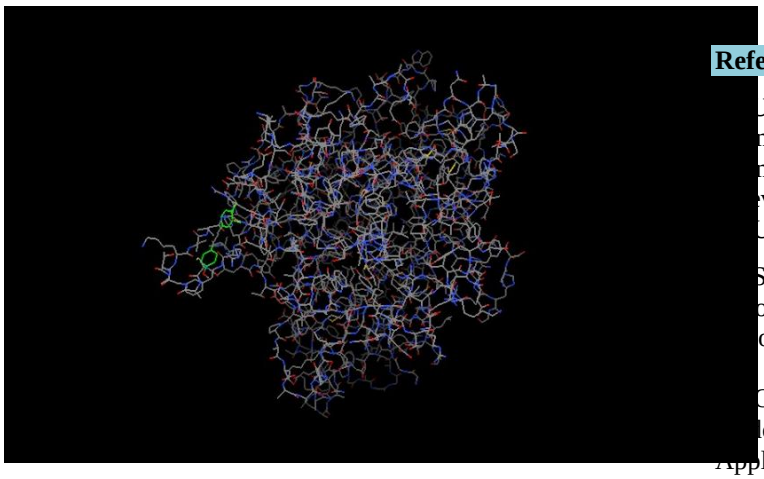


Figura 5. Aproximação da proteína Tyrosinase com a molécula (E)-3-(3,4-Dichlorophenyl)-1-(4-methoxyphenyl)prop-2-en-1-one. Fonte: Autodock tools.

Em trabalho de Gupte (2018), nota-se uma aproximação superficial e externa do ligante (ganomicina 1) estudado ao receptor tirosinase, que pode ocasionar devido a presença ou ausência de energias de ligações afetando no modo de interação (figura 6).

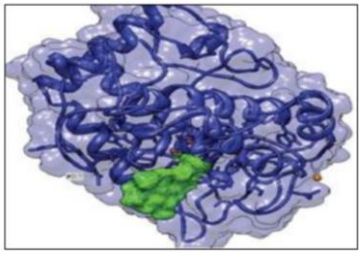


Figura 6. Interação ligante (ganomicina 1) e receptor (tirosinase). Fonte: Gupte, 2018.

Considerações Finais

Os derivados das chalconas estudadas a partir do estudo in Silico, foi observada interação com a proteína tirosinase estudada. Esses resultados mostraram promissores sendo assim um forte candidato para o estudo de desenvolvimento de fármacos.

Agradecimentos

Agradecemos ao IFMS pela oportunidade de desenvolver este trabalho, aos orientadores Profa. Felicia Megumi Ito e Prof. Gleison Nunes Jardim por toda orientação e compreensão.

Referências

ULAY-ABULAFIA, Luna et al. Afecções matológicas de A a Z. In: _____. Atlas de matologia da Semiologia ao Diagnóstico. Rio de Janeiro: evier, 2007. Seção 3, p.719- 720. (AZULAY-ULAFIA et al. 2007).

SCONATI, SANDRO et al. Virtual Screening with oDock: Theory and Practice. Expert opinion on drug overy 5.6 (2010): 597–607. PMC, 2010.

O, J., Hurley, M. M., Wright, J. B. & Lushington, G. H. locking score function for estim protein interactions: Application to acetylcholinesterase inhibition. Journal of medicinal chemis 5492-5500, 2004.

GUAN, S.; SU, W.; WANG, N.; LI, P.; WANG, Y. A Potent Tyrosinase Activator from Radix Polygoni multiflori and its Melanogenesis Stimulatory Effect in B16 Melanoma Cells. Phytotherapy Research, v. 22, n. 5, p. 660-663, 2008.

GUPTE, A., PALANDE, A., VENKATA, S., & POL, R. Docking Studies of Ganoderma Lucidum. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research, v.9, n.3, p. 1100-1105, 2018.

KIM, Y. M.; YUN, J.; LEE, C.; LEE, H.; MIN, K. R.; KIM, Y. Oxyresveratrol and hydroxystilbene compounds. Inhibitory effect on tyrosinase and mechanism of action. The Journal of Biological Chemistry, v. 277, n. 18, p. 16340-16344, 2002.

PENG, J. W. Communication breakdown: protein dynamics and drug design. Structure, v. 17 2009.

SEO, S. Y.; SHARMA, V. K.; SHARMA, N. Mushroom Tyrosinase: Recent Prospects. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 51, n. 10, p. 28372853, 2003.

SAEWAN, N.; KOYSOMBOON, S.; CHANTRAPROMMA, K. Anti-tyrosinase and anti-cancer activities of flavonoids from Blumea balsamifera DC. Journal of Medicinal Plants Research, v. 5, n. 6, p. 1018-1025, 2011.

TROOTT, O. & OLSON, A. J. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking scoring function, efficient optimization, and multithreading. Journal of computational chemist 455-461, 2010.