

AVALIAÇÃO *IN SILICO* DE ANCORAGEM MOLECULAR DE UM HÍBRIDO DE TIOSSEMICARBAZONA E DE POSSÍVEIS PRODUTOS DE BIOTRANSFORMAÇÃO

David Ilitch da Silva¹; João Pedro Pereira Gomes²; Antonio Miguelsinho Martins de Sousa Filho³; Caio Victor Silva Soares⁴; Jamerson Ferreira de Oliveira⁵.

^{1,2,3,4}Discente de Farmácia pela Universidade da Integração da Lusofonia Afro-brasileira; ⁵Docente pela Universidade da Integração da Lusofonia Afro-brasileira.

Área temática: Temas transversais

Modalidade: Comunicação Oral

E-mail dos autores: ilitchdavid@gmail.com¹; joaopedropereira@aluno.unilab.edu.br²; miguelmartins522@gmail.com³; caiovicto556@gmail.com⁴; jamerson@unilab.edu.br⁵.

RESUMO

INTRODUÇÃO: O ácido acetilsalicílico (AAS) é um anti-inflamatório inibidor das isoformas da ciclooxigenase (COX-1 e COX-2), sendo alvo de estratégias de planejamento de fármacos, como a hibridização molecular, que baseia-se na combinação de moléculas bioativas para otimizar o potencial terapêutico. As tiossemicarbazonas são compostos privilegiados com propriedades biológicas descritas em literatura, comumente requeridas nesse tipo de estratégia. Outrossim, abordagens *in silico* podem ser utilizadas visando uma triagem mais efetiva dos compostos inovadores, em que se destaca a docagem molecular. **OBJETIVO:** O estudo visa prever a farmacodinâmica *in silico* a partir do docking molecular do derivado HAAS-3 sintetizado pelo Laboratório de Química Orgânica Aplicada a Fármacos-UNILAB, bem como de seus metabólitos de fase 1. **MÉTODO:** Inicialmente, utilizou-se a plataforma *Xenosite* para obtenção de 3 possíveis metabólitos de fase 1 (a1, a2 e a3) do híbrido HAAS-3. O desenho do HAAS-3 e dos metabólitos foi feito pelo *Marvinsketch*, a minimização de energias das moléculas ocorreu no *ArgusLab*. Os alvos COX-1 (PDB ID: 4O17) e COX-2 (PDB ID: 4M11), foram obtidos no *Protein Data Bank*. Depois, o *docking* molecular foi efetuado no GOLD 2024.1.0 e a visualização dos complexos ligantes-macromoléculas pelo *Discovery Studio 2024 Client*. **RESULTADO:** Os resultados obtidos pela plataforma *Xenosite* mostram uma presença de reações de oxidação. Em relação à ancoragem molecular, o híbrido demonstrou maior seletividade frente a COX-2 quando comparado ao ligante co-cristalizado, com destaque aos seus metabólitos que obtiveram resultados consideravelmente superiores ao meloxicam. Já com relação à COX-1, apenas os metabólitos demonstraram maior afinidade que o ligante co-cristalizado, indicando uma certa seletividade do híbrido. **CONCLUSÃO:** Portanto, notou-se que o híbrido HAAS-3 mostrou potencial anti-inflamatório, principalmente na COX-2, que oferece menor restrição conformacional, e que os metabólitos da oxidação, promovem aumento da atividade dos híbridos nas duas isoformas da enzima.

Palavras-chave: Tiossemicarbazona, Docking molecular, Biotransformação.

1. INTRODUÇÃO

O ácido acetilsalicílico (AAS) também conhecido como aspirina é um AINE utilizado para alívio de dores de intensidade leve a moderada. O AAS em doses baixas, tem efeitos

anticoagulantes, sendo também utilizado para diabetes e até no tratamento e prevenção de câncer. Referente ao efeito anti-inflamatório, o mecanismo de ação do medicamento se estabelece a partir da inibição irreversível das isoenzimas cicloxigenase (COX-1 e COX-2), envolvidas na síntese das prostaglandinas, acetilação da molécula de serina (Moita *et al.*, 2022).

A química medicinal é a área dentro das ciências farmacêuticas que tem como objetivo planejar, inventar e preparar compostos biologicamente ativos (protótipos) e aprimorar fármacos, visando promover um melhor tratamento para os indivíduos. A devida área permite desenvolver estudos e estratégias que propiciam o aprimoramento de aspectos farmacodinâmicos e farmacocinéticos dos fármacos (Melquide *et al.*, 2024). Diante desse cenário, destaca-se a Hibridização Molecular, técnica utilizada para a obtenção de arcabouços moleculares compostos por dois ou mais fármacos, ligados covalentemente, com o objetivo de criar uma molécula mais eficaz comparada aos seus componentes individuais (Araújo *et. al.*, 2015).

Adiante, as tiossemicarbazonas são compostos que podem ser advindos da reação de condensação quimiosseletiva da tiossemicarbazida com aldeídos e cetonas, apresentando atividades antitumorais, antivirais, antibacterianas etc. Sua estrutura é bastante estudada dentro da Química Medicinal, a partir da óptica da Hibridização Molecular, visando a obtenção de novos fármacos devido a propriedade quelante que este núcleo molecular é capaz de apresentar (Santos, 2021).

No que se refere aos estudos *in silico*, evidencia-se o *docking* molecular, que visa o “encaixe perfeito” entre um ligante e uma macromolécula, formando assim um complexo que pode ser usado para estimar a afinidade de ligação ou a força de associação entre o alvo farmacológico e o fármaco. No âmbito do planejamento de fármacos anti-inflamatórios, a COX apresenta-se como um alvo molecular muito explorado no *docking* molecular, visto que suas isoformas estão relacionadas com o mecanismo de ação de diversas moléculas com atividade biológica. Nessa perspectiva, pode-se compreender a efetividade de híbridos, contra o processo inflamatório, a partir da junção da tiossemicarbazona com o ácido acetilsalicílico, obtendo assim, um melhor direcionamento para o desenvolvimento de outras pesquisas (Santos, 2021).

Outrossim, arcabouços ou híbridos moleculares quando inseridos no corpo geralmente passam pelo processo de metabolização, que consiste em um processo farmacocinético que deve ser comumente considerado devido ao potencial dos produtos que podem ser obtidos. Isso porque, a partir do processo de biotransformação podem se formar metabólitos que auxiliem na terapêutica

através da permanência de ações contra os alvos farmacológicos ou não, gerando efeitos que podemos ser considerados benéficos ou maléficos (Pereira, 2006).

Nessa perspectiva, o presente estudo se propõe a realizar a predição de parâmetros farmacodinâmicos através de testes *in silico*, com a utilização da estratégia de docking molecular de um híbrido de ácido acetilsalicílico com tiossemicarbazona (HAAS-3), sintetizado pelo Laboratório de Química Orgânica Aplicada a Fármacos-UNILAB, bem como, com três distintos produtos de metabolismo primário do composto apresentado.

2. MÉTODO

A princípio, para que fosse possível compreender o padrão de interações existente entre as moléculas de interesse contra os alvos COX-1 e COX-2. Tornou-se necessário adquirir os possíveis produtos do processo de biotransformação do híbrido de HAAS-3, que poderiam ser obtidos na metabolização de fase 1. Assim, foi realizado utilizando a plataforma do *Xenosite*, uma predição dos pontos de metabolização da molécula, e assim pode-se fazer alterações no arcabouço molecular do HAAS-3 para adquirir três possíveis produtos (a1, a2 e a3) de metabolismo de primeira fase.

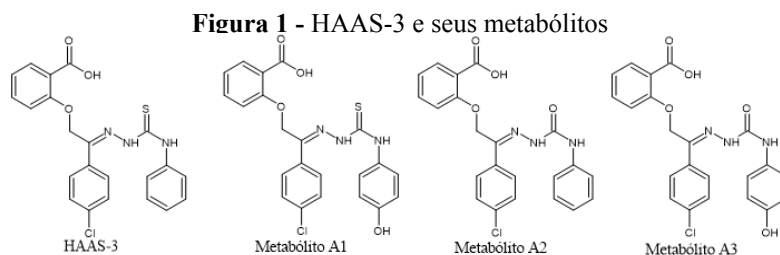
Adiante, com a obtenção de possíveis produtos da metabolização, ocorreu o desenho do HAAS-3, assim como dos metabólitos a1, a2 e a3 que se estabeleceu a partir da plataforma do *Marvinsketch*, enquanto para a minimização de energias das moléculas foi requerido o *ArgusLab*. Paralelamente, ocorreu a retirada dos alvos COX-1 (PDB ID: 4O17) e COX-2 (PDB ID: 4M11) da plataforma do *Protein Data Bank*. Deste modo, após a obtenção do alvo e preparo prévio dos ligantes, pôde-se realizar o processo de *docking* molecular através do GOLD 2024.1.0 (*Genetic Optimization for Ligand Docking*) e para ambos os alvos foi requerido nesta etapa como função de score o ChemPLP, que foi o que apresentou o menor valor de RMSD (0.3032 para a cox-1 e 0.3122 para a cox-2) após a realização dos *redockings*, que utilizaram o ligante co-cristalizado de referência, o Meloxicam (mxm). Por fim, para que fosse possível realizar a visualização dos complexos ligante-macromolécula que foram obtidos, compreender interações realizadas com os aminoácidos, e perceber o panorama de interação de cada uma das moléculas, foi requerido o *Discovery Studio 2024 Client*.

Nessa perspectiva, pôde-se entender como se estabelece o perfil de interações de cada uma das moléculas com ambos os alvos, compreendendo se ocorre alguma seletividade do híbrido de

HAAS-3 com alguma isoforma da enzima COX, a partir da comparação dos resultados do *docking* com os do *redocking*. Além disso, também foi possível avaliar a presença de algum potencial anti-inflamatório dos produtos de metabolização de fase 01 que foram obtidos.

3. RESULTADOS

Os resultados apresentados a partir da plataforma do *Xenosite* apontam 3 possíveis reações de oxidação ao arcabouço do HAAS-3. Dentre elas, observou-se uma hidroxilação aromática resultando no metabólito a1, bem como uma oxidação na tiocarbonila que desencadeou o metabólito a2. Além disso, também foi considerado o metabólito a3, em que se estabelece simultaneamente a ocorrência de ambas as oxidações.



Fonte - Dos autores, 2024.

Quanto aos resultados de ancoragem molecular, o híbrido demonstrou maior seletividade ao alvo (PDB: 4M11) referente a cicloxigenase tipo 2, com fitscore superior ao ligante cocristalizado (mxm - 61.1483 vs HAAS-3 - 73.2256). Já com relação ao alvo (PDB:4O1Z) respectivo a cicloxigenase tipo 1, o composto apresentou interação semelhante ao meloxicam (mxm - 60.5354 vs HAAS-3 - 59.0247). Quando observamos os seus metabólitos, verificou-se um aumento da afinidade por ambas as isoformas da enzima. Com relação ao alvo referente a COX-1, percebeu-se que o derivado a3 (fitscore: 73.8339) apresentou valores de fitscore mais promissores, seguido do a1 (fitscore: 73.3668) e a2 (fitscore: 73.0117). Ademais, os resultados referentes a COX-2 dos compostos a1 (fitscore: 82.5115), a2 (fitscore: 84.5273) e a3 (fitscore: 80.1531) apresentaram uma maior discrepância de **fitscore** quando comparados ao Meloxicam.

4. DISCUSSÕES

Como justificativa, supõe-se que os resultados obtidos estão atrelados às características estruturais do híbrido e seus metabólitos, bem como pela diferença entre as duas isoformas da ciclooxygenase. Inicialmente, deve-se considerar a existência de um importante bolsão dentro do

sítio de ligação da COX, que é considerado mais acessível na isoforma COX-2 do que na COX-1, devido a substituição do aminoácido Ile523 por Val523, alterando a conformação do resíduo Tyr355, e assim reduzindo o impedimento estérico do sítio ativo da enzima. Com isso, a COX-2 torna-se mais receptiva a interações com ligantes mais volumosos, justificando a maior seletividade para com o híbrido HAAS-3 e seus metabólitos (Oniga *et al.*, 2017).

Outrossim, a maior afinidade dos compostos planejados com os alvos também pode ser justificada pela presença de interações intermoleculares importantes com resíduos de aminoácidos do sítio catalítico da enzima. Para o alvo COX-1, o híbrido desempenhou uma menor atividade se comparado ao ligante cocrystalizado, mesmo apresentando uma maior quantidade de ligações de hidrogênio. Essa diferença pode ser justificada a partir da aproximação estabelecida entre o ácido benzoico dos compostos planejados e a cadeia hidrofóbica da Ile523, o que proporcionou o desenvolvimento de um impedimento estérico. Já com relação a COX-2, o HAAS-3 demonstrou maior afinidade quando comparado ao Meloxicam, mesmo que em ambas as situações seja observada apenas uma ligação de hidrogênio. Como justificativa, pode-se supor que a ausência da Ile523 e consequentemente, redução do impedimento estérico, preservou interações hidrofóbicas importantes com os aminoácidos Ala527, Gly526, Leu352, Val349, além de adicionar uma nova interação com a Val523 (Xu *et al.*, 2014; Oniga *et al.*, 2017).

Ademais, no que se refere ao ensaio *in silico* frente a COX-1, destaca-se o metabólito a3, que obteve o melhor fitscore, justificado pela presença de 2 ligações de hidrogênio importantes com os aminoácidos Ser530 e Met522, além de 2 interações pi-enxofre, 1 interação pi-amida e 14 interações hidrofóbicas. Com relação ao alvo COX-2, o composto a2 mostra-se como o composto com maior afinidade *in silico* frente ao complexo enzimático, resultado da presença de novas interações polares alcançadas devido à mudança conformacional promovida pela oxidação. A troca do átomo de enxofre por oxigênio ocasionou em uma interação desfavorável do tipo acceptor-acceptor de ligação de hidrogênio, sendo compensada pela presença de 3 ligações de hidrogênio entre os grupos éter e ácido benzoico do composto e os aminoácidos Arg120 e Tyr355 da cicloxigenase, estabilizando o complexo biomacromolecular. Por fim, torna-se interessante destacar que uma maior seletividade dos metabólitos frente a ambos os alvos pode influenciar nas características farmacocinéticas do híbrido, seja pelo aumento do tempo de ação ou possível toxicidade (Pereira, 2006; Xu *et al.*, 2014; Onia *et al.*, 2017).

5. CONCLUSÃO

A partir do estudo realizado, nota-se a potencial eficácia do híbrido tiossemicarbazona-AAS, quanto a sua atividade anti-inflamatória, principalmente frente a COX-2, devido à menor restrição conformacional verificada no sítio ativo de ação. Quanto aos metabólitos, pode-se observar que o resultado da oxidação, promovem um aumento da atividade dos híbridos com as duas isoformas da enzima, evidenciando o metabólito a3 frente à COX-1 e o a2 frente à COX-2. Deste modo, torna-se possível obter um melhor direcionamento para as testagens laboratoriais que poderão ser realizadas, como também, o reconhecimento da possível ação dos metabólitos testados, e os efeitos benéficos ou não que a ação prolongada dos híbridos poderá proporcionar.

REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, Cleônia Roberta Melo *et al.* Desenvolvimento de fármacos por hibridação molecular: uma aula prática de química medicinal usando comprimidos de paracetamol e sulfadiazina e a ferramenta virtual. **Quim. Nova**, v. 38, n. 6, p. 868-873, 2015
- MELQUIDE, J.E. *et al.* **Química medicinal e o desenvolvimento de novos fármacos:** Inovações tecnológicas e os desafios na Educação, Saúde e Diversidade. *In: FÓRUM RONDONIENSE DE PESQUISA*, 9., 2023, Paraná, Anais.Paraná: OUT, 2023.
- ONIGA, S. D. *et al.* Perfil de inibição de COX e estudos de docking molecular de alguns 2-(trimetoxifenil)-tiazóis. **Molecules**, v. 22, n. 9, p. 1507, 2017.
- PEREIRA, D. G. Importância do metabolismo no planejamento de fármacos. **Quim. Nova**, v. 30, n. 1, p. 171-177, 2007.
- SANTOS, L.H. Docagem molecular: em busca do encaixe perfeito e acessível. **Revista Brasileira de Bioinformática**, [s.l.], v. 3, n. 2, 2021.
- SANTOS, K.G.M. **Síntese de tiossemicarbazonas derivadas de chalconas**. 2021. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) - Departamento de Farmácia de Ciências da Vida, Universidade Federal de Juiz de Fora, Governador Valadares, MG, 2021.
- XU, S. *et al.* Oxicams bind in a novel mode to the cyclooxygenase active site via a two-water-mediated H-bonding network. **Journal of Biological Chemistry**, v. 289, n. 10, p. 6799-6808, 2014.