

ESTUDOS DE DOCKING MOLECULAR PARA COMPREENSÃO DO MECANISMO DE AÇÃO ANTIPARKINSON DA APOCININA E DIAPOCININA

Alex Geovane da Silveira Pereira¹

Camila Coelho Rodrigues²

Elton Luis Gasparotto Denardin³

Fávero Reisdorfer Paula⁴

Resumo:

A Doença de Parkinson (DP) é um distúrbio neurodegenerativo de evolução crônica e progressiva que se caracteriza por sinais clínicos e sintomas relacionados a desordens motoras, como tremores, bradicinesia, rigidez muscular, e sintomas não-motorizados. As características patológicas da DP estão associadas ao esgotamento de dopamina no corpo estriado causada pela degeneração dos neurônios dopaminérgicos, aliado ao aparecimento de corpos de Lewis citoplasmáticos, constituídos principalmente pelas proteínas alfa-sinucleína, ubiquitina e sinfilina-1. Neste cenário, pouco se sabe sobre o mecanismo que contribui para a agregação de alfa-sinucleína e sua maior toxicidade para o neurônio dopaminérgico. Compostos que possam atuar como inibidores da formação de corpos de Lewis, através da modulação da alfa-sinucleína, se apresentam como promissores para o desenvolvimento de agentes terapêuticos novos. A apocinina (1-(4-hidroxi-3-metoxifenil) etanone) e a seu dímero, a diapocinina, são compostos com ação antiparkinsoniana potencial e são objetos de estudo em área de planejamento e desenvolvimento de novos fármacos. Nesta área, os estudos de modelagem e docking molecular são procedimentos computacionais utilizados para a compreensão das interações moleculares entre ligante e os resíduos de aminoácidos do sítio ativo de enzimas. No caso estudado, as proteínas envolvidas na modulação são a NADPH oxidase - 1 (NOX-1) e a própria agregação da alfa-sinucleína. Este estudo visou à investigação da interação entre os compostos apocinina e diapocinina com a enzima NADPH oxidase - 1 e também com a alfa-sinucleína, com o uso de softwares de docking molecular, para fins de comparação e sugestão de qual é o alvo para ação destes compostos. Estes modelos forneceram informações importantes para a compreensão do mecanismo de ação antiparkinsoniana. Neste estudo, a partir dos estudos de acoplamento de apocinina e diapocinina com as proteínas verificou-se que as moléculas não apresentaram interação com os sítios ativos da alfa-sinucleína em todas as abordagens ensaiadas de variação do tamanho do sítio ativo. Para a análise de interações das moléculas com a NOX-1 foram observadas interações com o sítio ativo o que sugere que esta proteína estar envolvida em sua atividade antiparkinsoniana. A apocinina apresentou ligação em região molecular dos resíduos de aminoácidos (VAL-365 e ARG-368) mais próxima aos aminoácidos SER-348 e SER-370 em comparação a

diapocinina. Este dado sugere que a apocinina pode apresentar melhor atividade de inibição da NOX-1 em relação ao seu dímero diapocinina. Este trabalho sugere que os modelos teóricos de interação entre compostos bioativos com atividade antiparkinsoniana potencial podem estar exercendo sua atividade na enzima NOX-1 (subunidade p47phox forma autoinibida) e não inibindo a alfa-sinucleína. Os modelos sugerem ainda que a diapocinina apresenta interação com o sítio ativo em resíduos de aminoácidos diferentes da apocinina e, também, que a apocinina interage em região molecular de maior proximidade a aminoácidos essenciais do sítio ativo. Este fato pode indicar uma maior atividade de inibição desta enzima pela apocinina.

Palavras-chave: alfa-sinucleína, apocinina, diapocinina, docking molecular

Modalidade de Participação: Iniciação Científica

ESTUDOS DE DOCKING MOLECULAR PARA COMPREENSÃO DO MECANISMO DE AÇÃO ANTIPARKINSON DA APOCININA E DIAPOCININA

¹ Aluno de graduação. geovanealex96@gmail.com. Autor principal

² Aluno de pós-graduação. milaccr@gmail.com. Co-autor

³ Docente. eltondenardin@unipampa.edu.br. Co-autor

⁴ Docente. faveropaula@unipampa.edu.br. Orientador



ESTUDOS DE DOCKING MOLECULAR PARA COMPREENSÃO DO MECANISMO DE AÇÃO ANTIPARKINSON DA APOCININA E DIAPOCININA

1. INTRODUÇÃO

A Doença de Parkinson (DP) é um distúrbio neurodegenerativo de evolução crônica e progressiva que se caracteriza por sinais clínicos e sintomas relacionados a desordens motoras, como tremores, bradicinesia, rigidez muscular, e sintomas não-motorizados. As características patológicas da DP estão associadas ao esgotamento de dopamina no corpo estriado causada pela degeneração dos neurônios dopaminérgicos, aliado ao aparecimento de corpos de Lewis citoplasmáticos, constituídos principalmente pelas proteínas alfa-sinucleína, ubiquitina e sinfilina-1 (Gosh et al. 2012). Neste cenário, pouco se sabe sobre o mecanismo que contribui para a agregação de alfa-sinucleína e sua maior toxicidade para o neurônio dopaminérgico. Compostos que possam atuar como inibidores da formação de corpos de Lewis, através da modulação da alfa-sinucleína, se apresentam como promissores para o desenvolvimento de agentes terapêuticos novos. A apocinina (1-(4-hidroxi-3-metoxifenil) etanone) e a seu dímero, a diapocinina, são compostos com ação antiparkinsoniana potencial e são objetos de estudo em área de planejamento e desenvolvimento de novos fármacos (Gosh et al. 2012). Nesta área, os estudos de modelagem e docking molecular são procedimentos computacionais utilizados para a compreensão das interações moleculares entre ligante e os resíduos de aminoácidos do sítio ativo de enzimas. No caso estudado, as proteínas envolvidas na modulação são a NADPH oxidase – 1 (NOX-1) e a própria agregação da alfa-sinucleína. Este estudo visou à investigação da interação entre os compostos apocinina e diapocinina com a enzima NADPH oxidase - 1 e também com a alfa-sinucleína, com o uso de softwares de docking molecular, para fins de comparação e sugestão de qual é o alvo para ação destes compostos. Estes modelos forneceram informações importantes para a compreensão do mecanismo de ação antiparkinsoniana.

2. METODOLOGIA

As estruturas químicas da apocinina e diapocinina foram desenhadas no programa Spartan 08' for Windows e submetidas a otimizações de geometria e análise conformacional (variação dos ângulos de 30°) usando o método DFT/B3LYP/6.31G*. Os confôrmeros de menor energia foram submetidos à análise de docking molecular. A estrutura da enzima NOX-1 (subunidade p47phox forma autoinibida) e da alfa-sinucleína foram baixadas do banco de dados digital online The Protein Data Bank (Berman et al. 2000), sob o código 1K4U e 1XQ8, respectivamente. As proteínas foram preparadas com o emprego de programa computacional Autodock 1.5.6 e os estudos de docking molecular foram realizados com o uso de programa Igemdock 2.1. Os parâmetros de cálculo envolveram o uso de algoritmo genético (tamanho da população 200, gerações 70, e número de soluções 2), funções de Gemdock (hidrofóbica 1 e eletrostática 1), e tamanho do sítio ativo de 3 a 8 angstroms.

3. RESULTADOS e DISCUSSÃO

Neste estudo, a partir dos estudos de acoplamento de apocinina e diapocinina com as proteínas verificou-se que as moléculas não apresentaram interação com os sítios ativos da alfa-sinucleína em todas as abordagens ensaiadas de variação do tamanho do sítio ativo. Para a análise de interações das moléculas com a NOX-1 foram observadas interações com o sítio ativo o que sugere que esta proteína estar envolvida em sua atividade antiparkinsoniana. Os valores de energia e as principais interações entre as moléculas e a NOX-1 podem ser observadas na tabela 1 e na figura 1, respectivamente. A apocinina apresentou ligação em região molecular dos resíduos de aminoácidos (VAL-365 e ARG-368) mais próxima aos aminoácidos SER-348 e SER-370 (Meijles et al. 2014) em comparação a diapocinina. Este dado sugere que a apocinina pode apresentar melhor atividade de inibição da NOX-1 em relação ao seu dímero diapocinina.

Tabela 1: Energias de interação (Van der Waals - VDW, ligação de hidrogênio e eletrostática) entre a apocinina e a diapocinina e o receptor NOX-1 (1K4U) obtidas com o uso de software Igemdock 2.1.

Compostos	Energia de Afinidade Kcal mol ⁻¹	VDW	Ligação-H	Eletrostática
Apocinina	-65,11	-48,48	-16,62	0
Diapocinina	-84,47	-68,02	-16,45	0

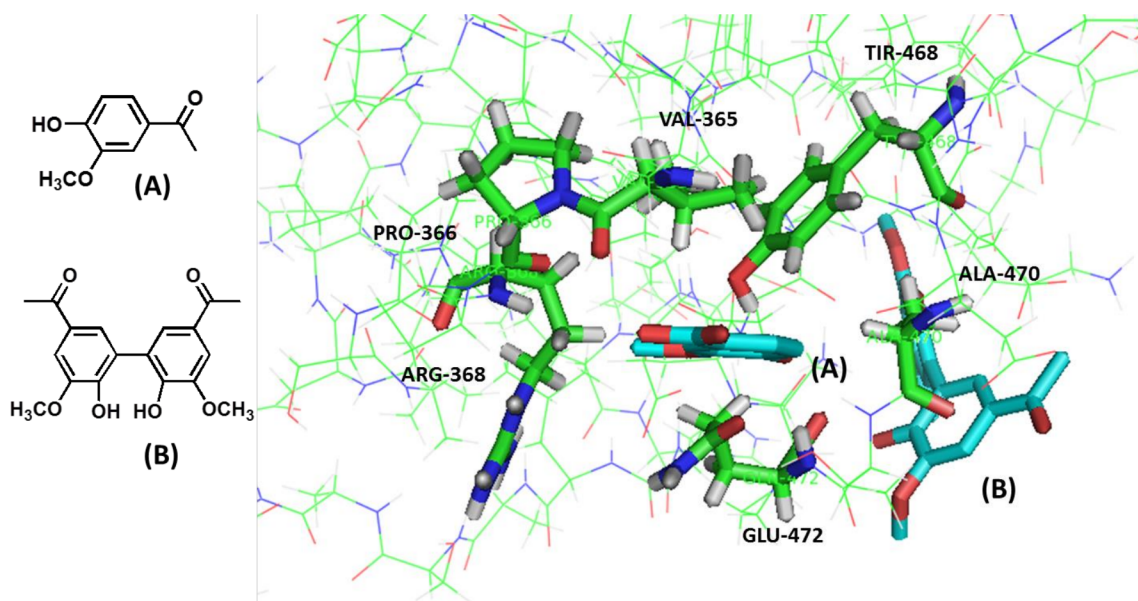


Figura 1: Principais Interações dos compostos apocinina (A) e diapocinina (B) com resíduos de aminoácidos envolvidos no local de ligação de NOX-1.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho sugere que os modelos teóricos de interação entre compostos bioativos com atividade antiparkinsoniana potencial podem estar exercendo sua atividade na enzima NOX-1 (subunidade p47^{phox} forma autoinibida) e não inibindo a alfa-sinucleína. Os modelos sugerem ainda que a diapocinina apresenta interação com o sítio ativo em resíduos de aminoácidos diferentes da apocinina e, também, que a apocinina interage em região molecular de maior proximidade a aminoácidos essenciais do sítio ativo. Este fato pode indicar uma maior atividade de inibição desta enzima pela apocinina.

5. REFERÊNCIAS

BERMAN, H. M.; WESTBROOK, J. Z.; GILLILAND, F. G.; BHAT, T. N.; WEISSIG, H.; SHINDYALOV, I. N.; Bourne, P. E. The Protein Data Bank. *Nucleic Acids Research*, v. 28, p. 235-242, 2000. Disponível em <http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>.

GHOSH, A.; KANTHASAMY, A.; JOSEPH, J.; ANANTHARAM, V.; SRIVASTAVA, P.; DRANKA, B.P.; KALYANARAMAN, B.; KANTHASAMY, A.G. Anti-inflammatory and neuroprotective effects of an orally active apocynin derivative in pre-clinical models of Parkinson's disease. *Journal of Neuroinflammation*, v. 9, p. 241, 2012.

MEIJLES, D. N.; FAN, L. F.; HOWLIN, B. J.; LI, J. M. Molecular insights of p47^{phox} phosphorylation dynamics in the regulation of NADPH oxidase activation and superoxide production. *Journal of Biological Chemistry*, v. 289, n. 33, p. 22759–22770, 2014.