



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA E FÍSICO-QUÍMICA
CURSO DE BACHARELADO EM QUÍMICA**

RAMON MOTA DE SOUSA

**DOCKING MOLECULAR DE DERIVADOS DO ALCALÓIDE 3,3-
DIISOPENTENIL-N-METIL-2,4-QUINOLDIONA COM A ONCOPROTEÍNA
C-MYC**

FORTALEZA

2022

RAMON MOTA DE SOUSA

DOCKING MOLECULAR DE DERIVADOS DO ALCALÓIDE 3,3-DIISOPENTENIL-N-METIL-2,4-QUINOLDIONA COM A ONCOPROTEÍNA C-MYC

Monografia apresentada ao curso de Bacharelado em Química do Departamento de Química Analítica e Físico-Química da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de bacharel em Química.

Orientadora: Prof.^a Dra. Fátima Miranda Nunes.

FORTALEZA

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S698d Sousa, Ramon Mota de.
Docking molecular de derivados do alcalóide 3,3-Diisopentenil-N-Metil-2,4-Quinoldiona com a Oncoproteína C-MYC / Ramon Mota de Sousa. – 2022.
34 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Curso de Química, Fortaleza, 2022.
Orientação: Profa. Dra. Fátima Miranda Nunes.
Coorientação: Profa. Dra. Maria da Conceição Ferreira de Oliveira.

1. Alcaloide. 2. 3,3-diisopentenil-N-metil-2,4-quinoldiona. 3. Docking molecular. I. Título.
CDD 540

RAMON MOTA DE SOUSA

DOCKING MOLECULAR DE DERIVADOS DO ALCALÓIDE 3,3-DIISOPENTENIL-N-METIL-2,4-QUINOLDIONA COM A ONCOPROTEÍNA C-MYC

Monografia apresentada ao curso de Bacharelado em Química do Departamento de Química Analítica e Físico-Química da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Química com Habilitação Industrial.

Orientadora: Prof.^a. Dra. Fátima Miranda Nunes.

Aprovada em: _/_/_

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a. Dra. Fátima Miranda Nunes. (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof.^a. Dra. Maria da Conceição Ferreira de Oliveira. (Orientadora Profissional)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Me. Jonatas Martins Negreiro. (Examinador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

A Deus.

A minha família.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha mãe e a minha avó, que me ajudaram a chegar até aqui e me deram o exemplo de trabalho duro, em busca dos objetivos.

Devo agradecer pela importância da companhia e presença de Isadora de Alencar, e dar reconhecimento aos amigos Brenno Misquita e Rafael Medeiros, pois convivemos e aprendemos muito.

A minha orientadora pedagógica, Prof.^a Dra. Fátima Miranda Nunes por ser uma excelente docente, agradeço também toda disponibilidade, paciência, ensinamentos, apoio e dedicação para que eu pudesse concluir essa etapa.

A Prof.^a Dra. Maria da Conceição Ferreira de Oliveira, por toda disponibilidade e cordialidade, muito importantes no estágio, e também por ter cedido o espaço do LABS (Laboratório de Biotecnologia e Síntese Orgânica) para que esse trabalho fosse possível.

Ao mestrando Paulo Gonçalves de Sousa Júnior, pela amizade, primeiramente, e por ajudar muito na construção do trabalho, usando de sua experiência e conhecimento em química teórica, auxiliando no que era preciso para o trabalho ser concluído.

Agradeço a todos que estiveram comigo na caminhada até o presente em especial os amigos que fiz durante a época de estudos da universidade, são eles: Vitória de Andrade, Túlio Aragão, Marcos Vinícius, Pedro Wilker e Francisco Alisson.

“O mais importante é tentar inspirar as pessoas para que elas sejam excelentes no que querem fazer.”

- Kobe Bryant

RESUMO

A busca por compostos biologicamente ativos com potencial para uso em diferentes terapêuticas segue um novo caminho a partir da execução de métodos *in silico*. A potencialidade desse tipo de estudo pode levar ao desenvolvimento rápido e de baixo custo de novas moléculas, quando comparadas ao mesmo tipo de trabalho realizado por métodos convencionais. Sabendo que os alcaloides constituem uma importante classe de compostos com diversas atividades biológicas relatadas, esse trabalho tem por objetivo realizar o *docking* molecular de três derivados do alcalóide 3,3-diisopentenil-*N*-metil-2,4-quinoldiona com a oncoproteína C-MYC. Inicialmente, a partir das estruturas 3D dos compostos foi determinada a conformação mais estável dos três derivados e o derivado que apresentou menor energia foi selecionado para a realização do *docking* molecular. O composto de menor energia foi o derivado obtido a partir da redução de uma carbonila cetônica e de duas isoprenilas, se mostrando mais adequado para o estudo de *docking* molecular usando o complexo PDB:6UOZ da oncoproteína c-MYC como alvo molecular. A análise dos resultados do *docking* molecular do derivado com o alvo molecular mostrou diversas interações tais como uma ligação de hidrogênio com o aminoácido ASP:248 e uma interação partir de uma ligação pi como o aminoácido LYS:224, assim como interações de Van der Waals mais distantes do tipo TYR:252, SER:246 e LEU250. Estudos dos outros derivados que se mostram promissores através do *docking* molecular ainda deverão ser realizados.

Palavras chave: alcaloide. 3,3-diisopentenil-*N*-metil-2,4-quinoldiona. *Docking* molecular.

ABSTRACT

The search for biologically active compounds with potential for use in different therapies follows a new path from the execution of *in silico* methods. The potential of this type of study can lead to the rapid and low cost development of new molecules, when compared to the same type of work performed by conventional methods. Knowing that alkaloids constitute an important class of compounds with several biological activities reported, this work aims to perform molecular docking of three alkaloid derivatives 3,3-diisopentenil-N-methyl-2,4-quinoldione with c-myc oncoprotein. Initially, from the 3D structures of the compounds, the most stable conformation of the three derivatives was determined and the derivative that presented the lowest energy was selected for molecular docking. The compound of lower energy was the derivative obtained from the reduction of a ketone carbonyl and two isoprenilas, being more suitable for the study of molecular docking using the PDB:6UOZ complex of c-MYC oncoprotein as molecular target. Analysis of the results of molecular docking of the derivative with the molecular target showed several interactions such as a hydrogen bond with the amino acid ASP:248 and an interaction from a pi bond such as amino acid LYS:224, as well as more distant Van der Waals interactions of type TYR:252, SER:246 and LEU250. Studies of other derivatives that are promising through molecular docking should still be carried out.

Keywords: alkaloid. 3,3-diisopentenil-N-methyl-2,4-quinoldione. molecular docking.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Alcaloide 1 e os derivados 2-12.....	16
FIGURA 2 - Página inicial do <i>Protein Data Bank</i>	20
FIGURA 3 - Visualização em 3D do complexo PDB:6UOZ na plataforma PDB.....	23
FIGURA 4 - Definição das coordenadas do <i>GRID</i> (escolhidos na etapa anterior) na plataforma DockThor 2.0®	24
FIGURA 5 - Estrutura 3D do composto derivado 10.....	27
FIGURA 6 - <i>Docking</i> da Molécula 1 (roxo) realizado no DockThor 2.0®. Representação visual da melhor pose encontrada em 3D (Realizada através do programa Discovery Studio Visualizer®).....	27
FIGURA 7 - <i>Docking</i> da Molécula 1 (roxo) realizado no DockThor 2.0®. Representação visual em 2D. (Realizada através do programa Discovery Studio Visualizer®).....	28

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Comparação entre visualização 2D e visualização 3D dos compostos após otimização de suas estruturas (visualização tridimensional obtida pelo programa Spartan Pro 1.0®).	26
----------	--	----

LISTA DE ABREVIATURAS

2D	Bidimensional
3D	Tridimensional
AM	Ancoragem Molecular
DSV	Discovery Studio Visualizer
LABS	Laboratório de Biotecnologia e Síntese Orgânica
LNCC	Laboratório Nacional de Computação Científica
PDB	Protein Data Bank

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
®	Marca registrada

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	14
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
2.1	Alcaloide quinolônico 3,3-diisopentenil- <i>N</i> -metil-2,4-quinoldiona.....	15
2.2	Importância de estudos teóricos computacionais no desenvolvimento de fármacos.....	16
2.3	Ancoragem molecular	18
2.4	O proto-oncogene <i>c-Myc</i>	21
3	OBJETIVOS.....	22
3.1	Objetivo geral.....	22
3.2	Objetivos específicos.....	22
4	METODOLOGIA.....	23
4.1	Recursos computacionais.....	23
4.2	Escolha do alvo molecular.....	22
4.3	Obtenção das estruturas tridimensionais dos ligantes e otimização.....	23
4.4	Escolha do <i>GRID</i>	23
4.5	<i>Docking</i> molecular.....	23
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	26
5.1	Otimização das estruturas do alcaloide 1 e seus derivados.....	26
5.2	Visualização de dados obtidos no <i>docking molecular</i>	27
6	CONCLUSÃO.....	30
	REFERÊNCIAS.....	31

1 INTRODUÇÃO

Os alcaloides são substâncias extraídas principalmente de plantas, mas que também podem estar presentes em alguns fungos e animais. Possuem caráter básico e pertencem ao grupo de compostos nitrogenados orgânicos, que apresentam anéis heterocíclicos contendo nitrogênio. A ampla variedade de estruturas dos alcaloides indica os motivos pelos quais, estas substâncias agem sobre sistemas biológicos (PRIOR, 2005).

Na busca por compostos biologicamente ativos Nunes *et al.*, 2005 relataram o isolamento do alcaloide 3,3-diisopentenil- *N*-metil-2,4-quinoldiona a partir das raízes e do óleo essencial de *Esenbeckia almavillia*, além da preparação de 11 derivados desse alcaloide.. Esses compostos tiveram sua ação antitumoral e antimicobacteriana testadas e apresentaram resultados significativos.

Sabendo que o planejamento e o desenvolvimento de fármacos e o uso de técnicas *in silico*, são usadas no entendimento das interações intermoleculares e de suas características (CARVALHO, 2003), o presente trabalho tem como objetivo realizar um *docking* molecular, utilizando três derivados do alcaloide 3,3-diisopentenil-*N*-metil-2,4-quinoldiona, com o objetivo de apontar uma atividade citotóxica. Essa avaliação será realizada através de simulações de ancoragem ou *docking* molecular com a oncoproteína c-MYC, uma proteína responsável por atuar no ciclo celular de células cancerígenas. Através dessa análise espera-se avaliar o modo de interação e a afinidade do de um dos derivados com a c-MYC, a fim de quantificar e qualificar as interações químicas intermoleculares e a estrutura conformacional entre o derivado selecionado e o sítio ativo escolhido.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Alcaloide quinolônico 3,3-diisopentenil-*N*-metil-2,4-quinoldiona

Entre as principais substâncias extraídas das plantas, os alcaloides são umas das classes mais pesquisadas do ponto de vista químico e biológico, devido a sua atividade antitumoral contra diversas linhagens cancerígenas (EFFERTH; OESCH, 2021). Os alcaloides são considerados substâncias muito promissoras, uma vez que podem ser utilizadas como protótipos na pesquisa de novos fármacos com atividade antitumoral.

Um alcaloide é definido como uma substância orgânica, de origem natural, cíclica, contendo um nitrogênio em um estado de oxidação negativo e cuja distribuição é limitada entre os organismos vivos. Os alcaloides constituem um vasto grupo de metabólitos com grande diversidade estrutural, uma vez que podem apresentar diferentes núcleos com sistemas heterocíclicos (BERTOLA, 2014).

O alcaloide 3,3-diisopentenil-*N*-metil-2,4-quinoldiona (**1**), pertencente a classe dos alcaloides 2-quinolônicos isolado do óleo essencial e do caule de *E. almawillia* sendo utilizado usado na preparação de uma série de derivados (**2-12**) (Figura 1) (NUNES, 2005). Para os alcaloides dessas classes são reportadas diversas ações biológicas com enorme potencial terapêutico (SHANG *et al.*, 2018; MICHAEL *et al.*, 2008). O alcaloide 3,3-diisopentenil-*N*-metil-2,4-quinoldiona é citado em outros trabalhos como substrato na síntese de compostos zwitteriônicos, um composto eletricamente neutro com uma carga elétrica formal negativa e positiva sobre os átomos adjacentes na mesma molécula. Esse trabalho mostra que esse alcaloide pode ser utilizado na produção de aminoácidos (MUÑOZ NEGRETE, 2010).

Diante da potencialidade biológica dessa classe de alcaloides esse trabalho visa investigar o potencial de três derivados do alcaloide **1** com ênfase na *docking* molecular do derivado de maior potencial frente a oncoproteína c-MYC, com a intenção de conhecer as principais interações existentes entre o derivado e essa proteína.

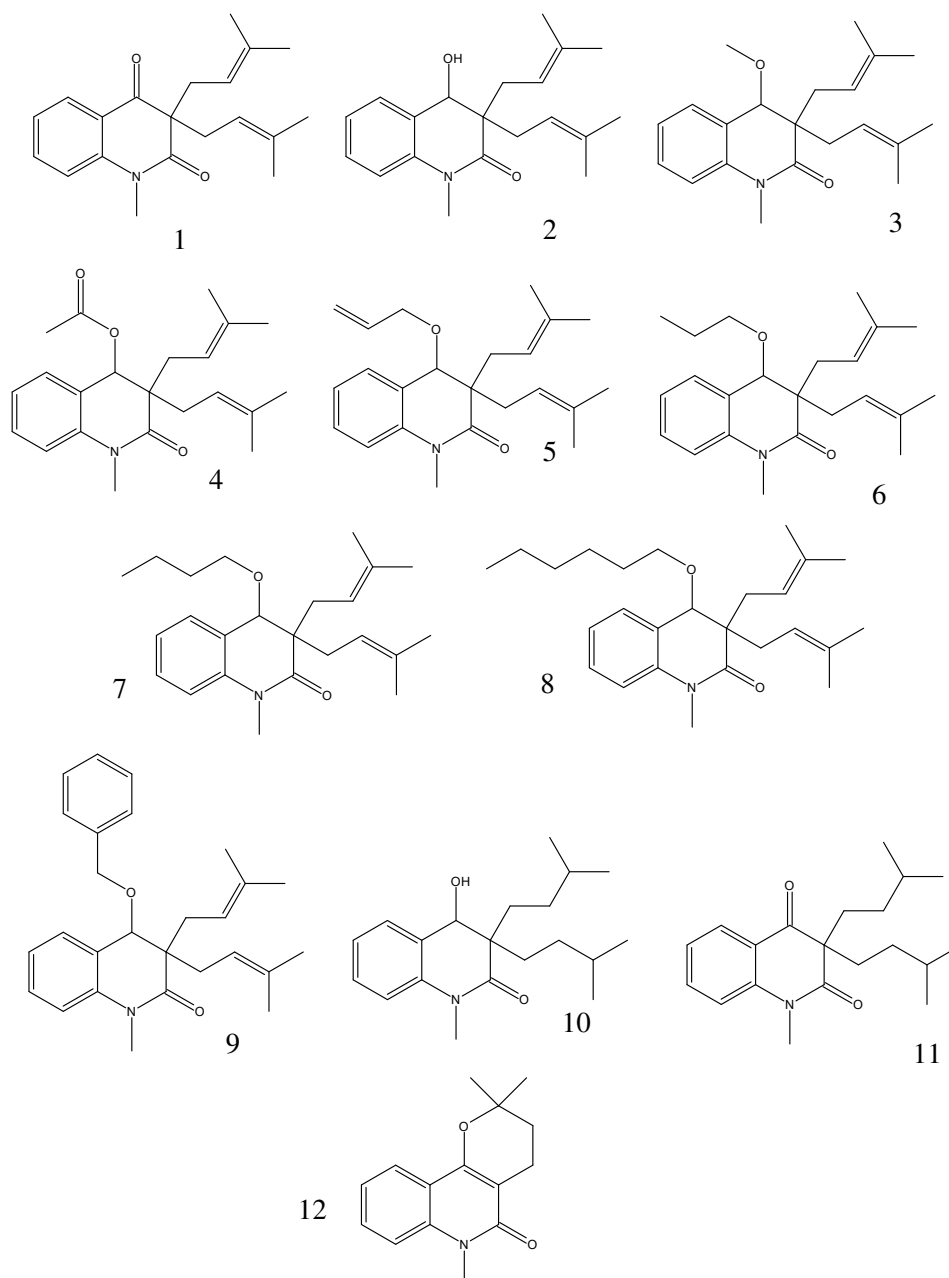


Figura 1: Alcaloide 1 e os derivados 2-12.

2.2 Importância de estudos teóricos computacionais no desenvolvimento de fármacos

O processo de descoberta de um novo fármaco, ou até mesmo o seu reposicionamento, é uma tarefa de alto custo financeiro que demanda um longo período de tempo (HECHT, 2009). A primeira etapa consiste na seleção de compostos potencialmente ativos para um determinado alvo farmacológico e essa seleção pode ser feita através da pesquisa em bibliotecas de compostos com milhares ou até milhões de compostos químicos (PIETRO-MARTINEZ *et al*, 2018). Diante deste contexto, os métodos computacionais surgiram fortemente como uma

alternativa de baixo custo para auxiliar e facilitar o processo de seleção de potenciais novos fármacos.

A procura por novas estruturas que apresentem atividades biológicas e o impacto que as mesmas podem trazer a saúde humana, faz dos estudos teóricos uma técnica muito usada na academia, indústria e institutos de pesquisas em todo o mundo, culminando na crescente especialização por parte da ciência médica e produção de ferramentas através de bancos de dados de compostos químicos (CHERKASOV *et al.*, 2014; DIRAR *et al.*, 2016).

O estudo *in silico* e técnicas de visualização tem como objetivo fornecer uma representação tridimensional do perfil da interação entre ligante e alvo biológico. Nesse sentido, as técnicas computacionais de simulação e visualização são essenciais no planejamento de reacional de novo fármacos, já que é possível observar a nível microscópico a interação entre o receptor-ligante. (JORGENSEN, 2010).

As simulações começam com situações bem simples (simulação entre dois compostos sem interferentes), e à medida que progridem e melhoram seu poder de predição, adicionam-se fatores ao sistema (temperatura, pressão ou até mesmo distorções na proteína receptora). O fato de não serem 100% fiéis as situações reais não invalidam sua utilidade, pois os testes *in silico* são ferramentas que servem como direcionamento para compreender aspectos experimentais. Nas áreas biomédicas existem diversas aplicações para o estudo *in silico* que tem levado a enormes progressos no desenvolvimento de fármacos (FERNANDES *et al.*, 2013). Atualmente determinadas linhas de pesquisa, como a genômica, a bioquímica de proteínas e outras biomoléculas, dependem essencialmente dessa ferramenta na predição de estruturas tridimensionais e de interações moleculares (FERNANDEZ *et al.* 2014).

O *Virtual Screening* é uma estratégia de estudo *in silico* que ajuda na redução de custo, tempo e esforço humano no desenvolvimento de novos fármacos e direcionamento para novos candidatos, adotando um método de triagem. A estratégia consiste em avaliar a efetividade de compostos em um determinado contexto frente a um alvo biológico, pela aferição de propriedades como: potência, seletividade (geralmente, por meio de estudos da Relação Estrutura Atividade), toxicidade e eficácia *in vivo*, baseando-se em estudos experimentais, auxiliados por análises computacionais (KESERU; MAKARA 2006). Durante todo o processo, ligantes candidatos a fármacos podem ter suas estruturas reajustadas para otimizar tais propriedades, inclusive as propriedades farmacocinéticas (Absorção, Distribuição, Metabolismo, Excreção e Toxicidade) (DAINA; ZOETE, 2016). Uma das vantagens desse tipo

de estudo *in silico* é que podem ser estudados e testados, computacionalmente, componentes ainda não disponíveis fisicamente, além de possibilitar o uso de grandes bibliotecas de compostos (SOTRIFFER, 2016).

Tendo em vista que de em cada 30.000 moléculas estudadas, 20.000 (66,7%) entram na fase de estudos pré-clínicos, 200 (0,67%) passam para a fase I de estudos clínicos, 40 (0,13%) entram na fase II, 12 (0,04%) seguem para a fase III, 09 (0,027%) são aprovadas pelos órgãos regulatórios, e apenas 01 (0,003%) satisfaz o mercado, trazendo retorno para a indústria que a desenvolveu, a busca por novos compostos bioativos nunca cessa (CALIXTO; JUNIOR, 2008).

2.3 Ancoragem molecular

A ancoragem molecular, também designada como atracamento, ou docagem (*docking*), é uma metodologia que fornece o prognóstico dos modos de ligação de micromoléculas (ou macromoléculas) ao interagirem com um sítio receptor (BARREIRO, 2015).

O *docking* molecular é uma metodologia frequentemente relatada em trabalhos de química medicinal e está entre os métodos químicos computacionais mais utilizados (RABELLO, 2012). A técnica oferece rapidez (para o grau de complexidade da análise), praticidade (o processo mais exigente, em quesito de *hardware*, é feito na nuvem, sem necessidade de o usuário ter um computador com configurações potentes) e permite, de acordo com os *softwares* empregados, a possibilidade de envio ou não de arquivos (tanto para o alvo biológico quanto para pequenas moléculas) (BARREIRO, 2015). Também existem uma série de bibliotecas de compostos disponíveis, podendo serem aplicados filtros para seleção de um conjunto de moléculas a partir de propriedades físico-químicas específicas, dentre outras características. (SOTRIFFER, 2016).

Como já citado anteriormente, possíveis moléculas bioativas são testadas para um determinado alvo molecular a fim de estabelecer qual, ou quais, delas poderão apresentar uma boa acomodação ao sítio ativo do alvo. As melhores poses (conformações e orientações) do ligante são encontradas por algoritmos de busca, enquanto que a classificação dessas soluções é conduzida em termos de afinidade pelo sítio de ligação via funções de pontuação (ou funções de score) com o objetivo de estudar detalhes energéticos das interações/ligações do sistema receptor-ligante (GUEDES *et al.*, 2014).

Os resultados obtidos nos ensaios computacionais são dados em termos da energia de ligação necessária para que a provável molécula bioativa se ligue ao sítio ativo do alvo molecular selecionado. A molécula que apresentar a menor quantidade de energia necessária para se ligar ao sítio ativo, teoricamente, apresentará melhor resultado de atividade biológica, pois, em sistemas bioquímicos, a estabilidade da formação do complexo ligante-macromolécula será favorecida em detrimento de outras ligações de mais alta energia com outros receptores (GOLAN, 2011).

Dessa forma, o *docking* molecular permite que diversas estruturas moleculares de possíveis compostos bioativos sejam testadas a fim de obter um *virtual screening*, em que aquelas que se apresentarem como mais promissoras passam para as etapas de síntese e avaliação de suas atividades biológicas, acelerando a fase inicial do desenvolvimento de um novo fármaco e evitando o trabalho desnecessário de síntese e avaliação biológica de estruturas não promissoras (GONÇALVES, 2015).

Com o objetivo de um melhor embasamento teórico para esse trabalho, podemos resumir as etapas básicas de realização do estudo teórico em:

- Escolha dos ligantes e do alvo biológico: Na execução do procedimento de triagem virtual a escolha dos ligantes é uma etapa crucial, uma vez que moléculas com potencial ação contra um alvo biológico devem ser escolhidas de acordo com características estruturais ou de atividade. A utilização de bibliotecas virtuais de compostos químicos também pode ser utilizada, uma vez que esses bancos de dados apresentam uma grande variedade de compostos, incluindo moléculas já conhecidas e consagradas por suas atividades biológicas e terapêuticas, tanto de origem natural como sintéticos. A qualidade da base de dados utilizada é de vital importância, pois é a fonte de onde serão selecionados os compostos promissores para futuros ensaios biológicos (BROWN *et al.*, 2000).

A escolha do alvo biológico também é realizada em bancos de dados específicos como o *Protein Data Bank* (PDB). Considerado como o principal repositório de dados estruturais de biomoléculas o PDB nas últimas décadas vem crescendo exponencialmente em número de moléculas depositadas. Seus dados são organizados em arquivos textuais nos quais, além das coordenadas atômicas, uma série de outras informações adicionais são apresentadas (GONÇALVES, 2015). Essa base de dados contém estruturas de biomoléculas tais como proteínas, DNAs, RNAs e seus ligantes, obtidos por técnicas como Ressonância Magnética Nuclear (RMN), cristalografia por difração de raios-X ou de nêutrons (BERMAN, 2000). Nos

dados de cristalografia é possível checar certos parâmetros que aferem a qualidade dos dados gerados, verificar resíduos ou átomos não presentes no mapa de densidade eletrônica, baixa ocupância e conformações alternativas.

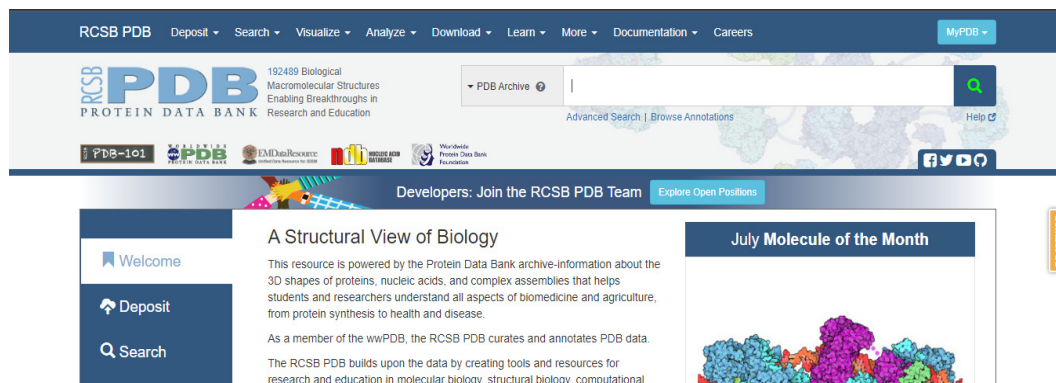


Figura 2: Página inicial do *Protein Data Bank*.

- Desenho e preparação dos ligantes: Nessa etapa os ligantes escolhidos para interação com o alvo biológico tem suas estruturas desenhadas em formato 3D com posterior otimização, a fim de se obter a conformação de menor energia. Diversos *softwares* podem ser utilizados para realizar essa etapa do trabalho, um deles é o Spartan Pro 1.0[®] que apresenta recursos disponíveis para cálculo de energia, geometria molecular de equilíbrio, geometria de estado de transição, conformidade de equilíbrio, distribuição de conformação, perfil de energia e análise de similaridade (HEHRE, 1999).

- Etapa de escolha do *GRID*: Consiste em escolher e identificar o sítio ativo do alvo biológico para realizar o *docking*, por meio do fornecimento de valores de coordenadas. Em geral trabalha-se com regiões ativas do alvo biológico baseadas em trabalhos descritos na literatura. O sítio ativo também é conhecido pela expressão chamada *GRID*, pelo fato da região escolhida ter um formato de um cubo (VOLKAMER, 2010).

- Tratamento do alvo biológico: Para a realização do *docking* molecular, o alvo biológico deve ser tratado em *software*, com o objetivo de remover moléculas de água do complexo e outros resíduos indesejáveis, a fim de que não ocorram interações paralelas, que atrapalhem a visualização da interação com o ligante escolhido. O BIOVIA Discovery Studio Visualizer[®] (DSV) é um dos *softwares* destinado a esse tipo de tratamento, podendo ser usado na análise e modelagem estrutural de ligantes, além de fornecer outros dados relevantes o estudo teórico. O DSV também inclui funcionalidades de visualização e edição de dados juntamente com ferramentas para realizar análises básicas de dados (JEJURIKAR, 2021).

- *Docking* molecular: consiste no processo de reunir todos os arquivos obtidos do ligante e do alvo biológico. Também são fornecidos os valores de energia envolvidos na interação (energia de afinidade, energia de van de Waals e energia total de ligação).

2.4 Proteína c-MYC

A c-MYC é uma proteína de 62 kDa (439 aminoácidos) e pertence à classe básica de fatores de transcrição estando associada a múltiplos processos celulares, incluindo proliferação, diferenciação, apoptose e metabolismo (SAMMAK *et al.*, 2019). Alterações no gene que codifica essa proteína são responsáveis por cerca de 40% dos tumores cancerígenos, incluindo linfoma de Burkitt, tumores epiteliais e linfoma de células B. Isso se deve ao c-Myc não ser apenas um regulador crítico da proliferação celular, mas também um regulador de outros processos metabólicos, incluindo a glicólise. Sabe-se que as células tumorais favorecem a glicólise, conhecida como efeito Warburg, e o c-Myc aumenta os níveis de transportadores de glicose e enzimas glicolíticas. Como regulador mestre de muitos dos processos associados ao câncer, o c-Myc é um alvo terapêutico atraente (MILLER, 2012).

Atualmente, sabe-se que o *c-myc*, gene de transcrição da proteína c-MYC, é superexpresso na maioria das linhagens tumorais. O potencial oncogênico desse gene decorre de sua capacidade de se ligar a sequências regulatórias em milhares de genes-alvo (BLACKWOOD; EISENMAN, 1991). A superexpressão do *c-myc* pode acarretar à instabilidade genética, à mortalidade celular, à redução na adesão celular à matriz, à angiogênese e à hipertrofia celular, fatores que colaborativamente permitem a progressão tumoral (MOGNOL, 2008). Tal desregulação pode ocorrer através de alterações epigenéticas, ampliações, translocações cromossômicas, mutações que rompem um dos muitos mecanismos que controlam sua expressão e mutações em sua própria proteína (ARVANITIS; FELSHER, 2006).

Sabendo que a c-MYC é uma das oncoproteínas mais importantes decorrentes dos tumores humanos, sugere-se que terapias eficazes para tratar o câncer podem resultar da descoberta de moléculas semelhantes a drogas que interferem no c-MYC em células cancerígenas. Consistente com essa noção, o c-MYC é um alvo anticancerígeno altamente validado, pois a inibição genética do c-MYC causa consistentemente a regressão do tumor (SOUCEK, 2013).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Realizar o *docking* molecular de um derivado do alcalóide 3,3-diisopentenil-*N*-metil-2,4-quinoldiona.

3.2 Objetivos específicos

Encontrar a conformação mais estável de três derivados do alcalóide 3,3-diisopentenil-*N*-metil-2,4-quinoldiona através da minimização de energia dos compostos.

Identificar o derivado com maior potencial para o *docking* molecular com a oncoproteína c-MYC.

Realizar o *docking* molecular do derivado selecionado.

Avaliar as principais interações entre o derivado selecionado e o oncoproteína c-MYC.

4 METODOLOGIA

4.1 Recursos computacionais

Nesse trabalho foi utilizado um computador Intel(R) Core (TM) i5-2400 CPU @ 3.10GHz com Sistema Operacional de 64bits durante as etapas de modelagem, ancoramento molecular e análise dos resultados.

O PDB é o banco de dados que contém a estrutura do alvo biológico. Para construção e otimização das estruturas dos alcaloides, utilizou-se o *software* Spartan Pro 1.0[®]. A escolha do sítio ativo (*GRID*) e o tratamento do alvo biológico foram feitos utilizando-se o Discovery Studio Visualizer[®] (DSV) (versão 21.1), além de ser usado na observação das interações resultantes do *docking* molecular. O processo de *docking* molecular foi realizado no Dockthor.

4.2 Escolha do alvo molecular

O complexo escolhido para análise foi o de código PDB:6UOZ. O alvo de estudo é conhecido e relatado na literatura como um complexo de proteína de ligação do gene c-Myc à proteína 5 (WDR5) localizado numa região do gene onde ocorrem superexpressões e desregularização do ciclo, contribuindo para crescimento de tumores. O complexo tem sítio ativo conhecido, pois existem testes utilizando a sulfonamida como inibidor. Por isso, o estudo acerca desse complexo se torna importante para desenvolver tratamentos terapêuticos, de forma a inibir o crescimento tumoral e minimizar a desordem do ciclo celular. O complexo PBB:6UOZ foi tratado no *software* DSV para a remoção de resíduos indesejáveis.

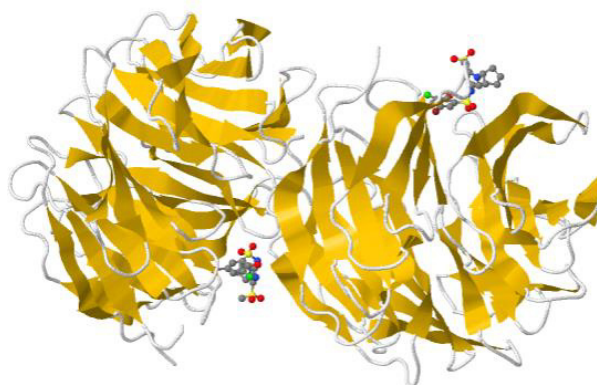


Figura 3: Visualização em 3D do complexo PDB:6UOZ na plataforma PDB.

4.3 Obtenção das estruturas tridimensionais dos ligantes e otimização

Para exploração das estruturas químicas do alcaloide **1** e seus derivados **2-12** foi necessário realizar a construção das estruturas em formato 3D usando-se o programa Spartan Pro 1.0[®]. A seguir, no mesmo *software*, essas estruturas passaram por etapas de minimização de energia através da obtenção da conformação de maior estabilidade da molécula.

4.4 Escolha do *GRID*

Usando o *software* DSV, o tamanho escolhido do *GRID* foi suficiente para envolver todos os aminoácidos do sítio ativo e adjacentes, quando interagir com o ligante. Nesta fase, o processo de definição do sítio ativo específico do complexo se baseou em estudo anterior da proteína, em que relatou inibição utilizando um tipo de sulfonamida atuando como ligante (CHACÓN SIMON, 2020). Portanto, o sítio ativo escolhido será o mesmo que foi explorado em estudos anteriores.

Os hidrogênios polares foram adicionados na estrutura do alvo biológico, essa é uma correção que deve ser feita antes do *docking* molecular, uma vez que a cristalografia por difração de raios-X (responsável por gerar a grande parte das estruturas de proteínas contidas no PDB), em geral não possibilita a visualização átomos de hidrogênio, devendo ser obrigatória a inserção dos mesmos através do *software*, que leva em conta também o pH e contexto químico-estrutural do alvo a ser protonado.

4.5 *Docking* molecular

O *docking* molecular foi realizado através da plataforma DockThor 2.0[®], fornecida e mantida pelo LNCC (Laboratório Nacional de Computação Científica). Nessa etapa, as coordenadas do *GRID*, os arquivos obtidos dos ligantes e do alvo biológico e o foram reunidos e inseridos na plataforma, para a realização do processo de ancoragem.

Após a ancoragem ser concluída, foi feito o download dos arquivos para serem visualizados no DSV, a fim de visualizar as interações (ocasionados no sítio ativo, definido etapa de escolha do *GRID*) que ocorrem durante a ancoragem. Vale ressaltar que, além de realizar o *docking*, a plataforma fornece ao final os valores de energia envolvidos nas interações (energia de afinidade, energia de van de Waals e energia total de ligação).

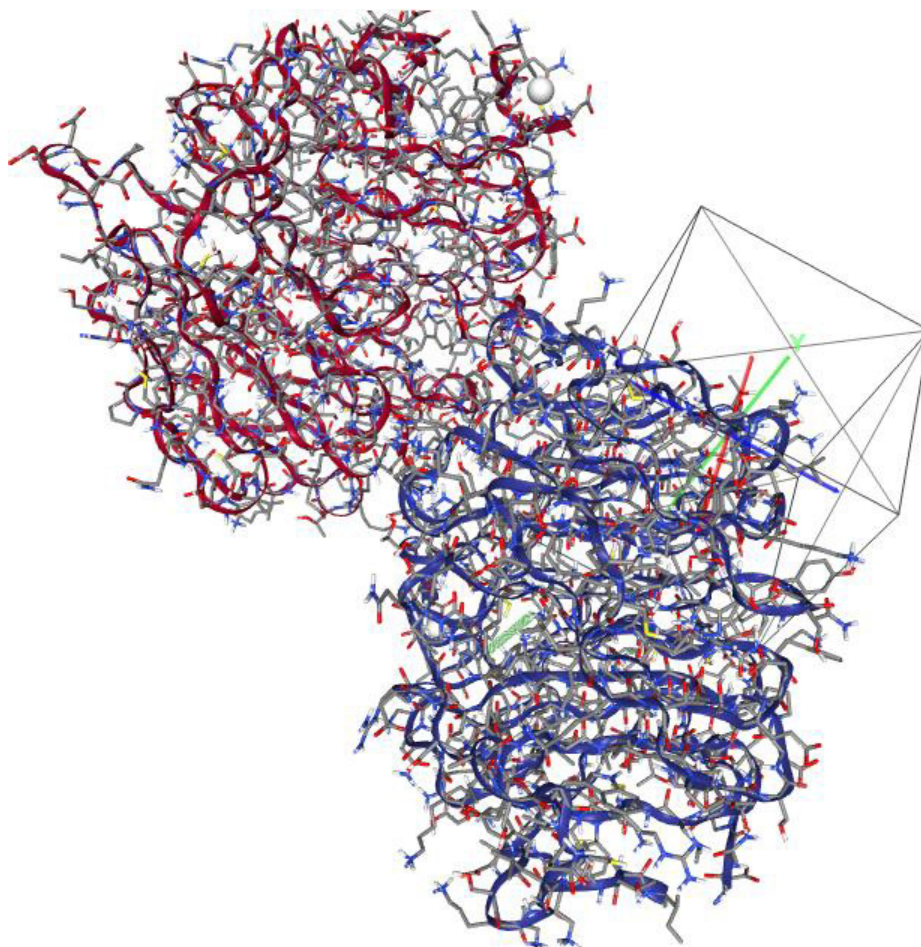


Figura 4: Definição das coordenadas do *GRID* (escolhidos na etapa anterior) na plataforma DockThor 2.0[®]. O *GRID* é representado em formato cúbico.

Importante ressaltar que o processo não consumiu nenhum recurso específico de *hardware* do computador, uma vez que o processo ocorreu na nuvem, por meio de máquinas virtuais, tornando sua utilização facilitada e deixando o processo mais rápido. Na utilização do Dockthor, múltiplas interações são feitas sobre a energia de interação (*scoring*), poupando múltiplos ciclos de processamento.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Otimização das estruturas dos derivados 4, 10 e 11

Baseando-se nos resultados de atividade antitumoral obtidos por Nunes *et al.* 2005, os derivados 4, 10 e 11 foram escolhidos como potenciais ligantes para o estudo de *docking* molecular. Inicialmente as estruturas desses derivados 4, 10 e 11 foram desenhadas para posterior etapa de minimização de energia, as conformações obtidas estão apresentadas na tabela 1.

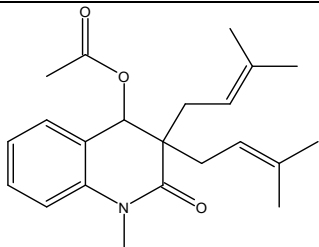

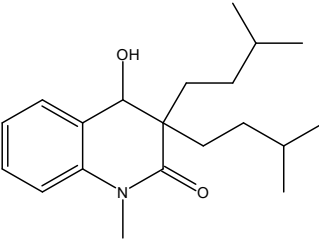
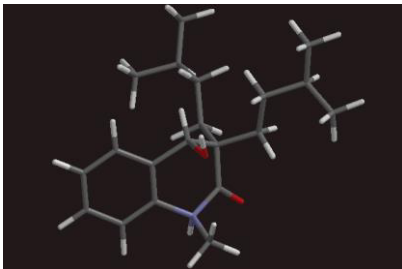
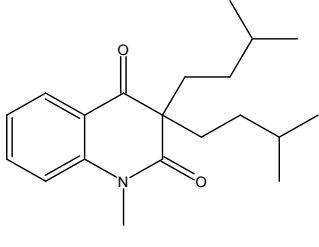
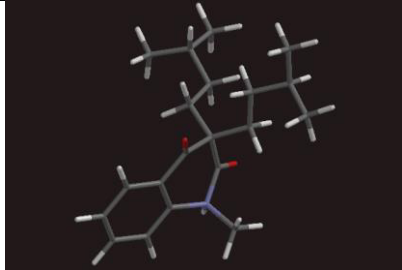
Substrato	Estrutura 2D	Estrutura 3D otimizada	Energia (KJ/mol)
4			91,4356
10			-49,7110
11			-31,4197

Tabela 1: Comparação entre visualização 2D e visualização 3D dos compostos 4, 10 e 11 após otimização de suas estruturas (visualização tridimensional obtida pelo programa Spartan Pro 1.0®)

De acordo com os valores de energia das estruturas otimizadas, evidenciou-se que o derivado 10 foi o que apresentou menor energia, dessa forma sabemos que o mesmo poderá apresentar uma maior energia de afinidade com um alvo biológico. A energia de afinidade alta

favorece a formação de interações intermoleculares entre o ligante e o alvo biológico. Dessa forma, neste trabalho o derivado 10 foi escolhido para realizar os cálculos de *docking* molecular (CARVALHO, 2011.).

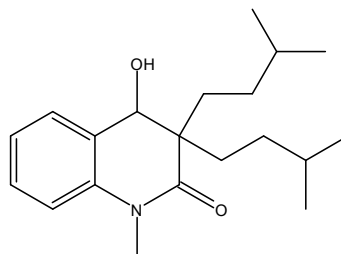


Figura 5: Estrutura do derivado 10.

5.2 Visualização de dados obtidos no *docking* molecular

Após os cálculos de *docking* molecular utilizando a proteína receptora e o derivado 10, foi possível identificar os resíduos de aminoácidos presentes, que são as frações do sítio ativo da molécula que realizam interações intermoleculares com o composto ligante, considerando para isso as melhores poses e scores de pontuação, fornecidas pelo arquivo gerado no DockThor 2.0[®]. Para dar início à análise, com o DSV e o ligante abertos na mesma área de trabalho, escolhe-se a opção *ligand interactions*.

É importante perceber que o DSV usa cores-padrão para indicar os tipos de interação, mas que podem ser personalizadas. As linhas tracejadas representam os contatos não-covalentes, sendo cada cor referente a uma categoria (natureza) de interação.

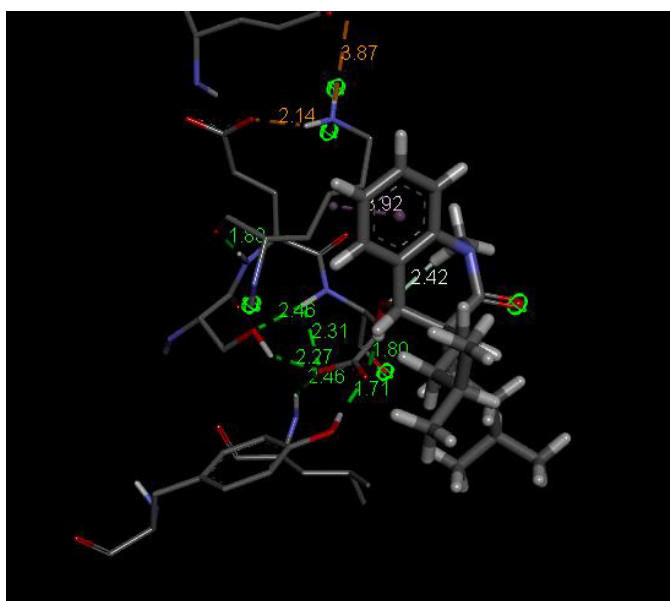


Figura 6: Docking da Molécula 1 (roxo) realizado no DockThor 2.0®. Representação visual da melhor pose encontrada em 3D (Realizada através do programa Discovery Studio Visualizer®).

Durante a análise do *software*, é possível também expandir o sítio de interação entre a proteína e o sítio ligante. Dessa forma, é possível verificar mais tipos de interações existentes entre as estruturas dos dois elementos. O *software* indica quais são os tipos de interações de acordo com cores, podendo ser vistas na figura 8.

Na etapa de inspeção, após observar a conformação ativa do ligante, é possível priorizar os contatos não-covalentes mais relevantes. Para tal, habilitando o painel de monitoramento do DSV, a aba NON-BOND permite ao usuário caracterizar as interações presentes no complexo, ao mesmo tempo, verificando quais são os parâmetros geométricos (distância e ângulo) associados.

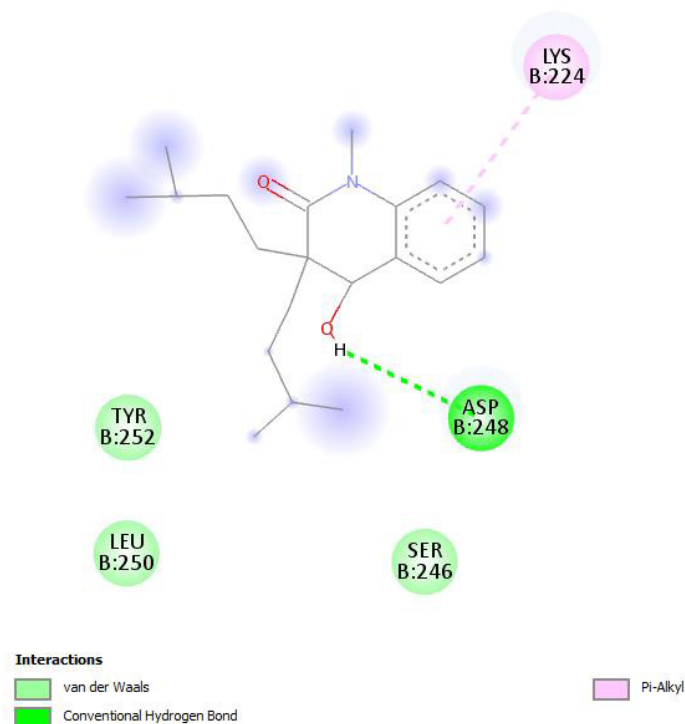


Figura 7: Docking da Molécula 1 (roxo) realizado no DockThor 2.0®. Representação visual em 2D. (Realizada através do programa Discovery Studio Visualizer®).

A atividade biológica de um ligante está relacionada com sua afinidade ao receptor (alvo biológico). Determinados modos de conformação no encaixe do sítio ativo da enzima ocorrem para maximizar os contatos com resíduos específicos da enzima, o que aumentam as contribuições eletrostáticas, hidrofóbicas, e de Van der Waals na formação do complexo. Foi possível identificar os resíduos de aminoácidos presentes na interação receptor-ligante de maior

interação apresentando ligação de hidrogênio com o aminoácido ASP:248. É uma observação importante, pois o reconhecimento de um composto como sendo um potencial inibidor enzimático envolve fundamentalmente a participação de ligações de hidrogênio com resíduos de aminoácidos do sítio ativo.

A interação com o ligante ocorreu a partir da ligação (π) com o aminoácido LYS:224, como indica a linha tracejada em roxo. Essa interação ocorre entre elétrons π do anel benzênico e o resíduo do aminoácido da proteína. Essa interação é mais estável e, conseqüentemente, leva a diminuição da energia de interação intermolecular do complexo formado.

A figura 7 ainda expõe outras interações mais distantes, os resíduos de aminoácidos que mostram diferentes interações presentes são: TYR:252, SER:246 e LEU250 sendo interações de Van der Waals. Essas interações consideram todo o complexo receptor-ligante e os resíduos de maior interação com o fármaco. Esse tipo de interação é considerado fraco, porém, as forças de dispersão são de extrema importância para o processo de reconhecimento molecular do fármaco pelo sítio receptor, uma vez que normalmente se caracterizam por interações múltiplas que, somadas, acarretam contribuições energéticas significativas.

O estudo *in silico* do derivado 10 do alcaloide 3,3-diisopentenil-*N*-metil-2,4-quinoldiona pode ser relacionado com outros estudos acerca da atividade desses alcaloides em linhagens importantes para combater o crescimento tumoral. Além disso, a análise do DSV pode ser relacionado com os estudos que sugerem que a presença de grupos alquila e carbonila podem influenciar na atividade antitumoral do composto (NUNES, 2005).

6 CONCLUSÃO

O estudo realizando recursos da química computacional se mostra eficaz em fornecer informações acerca de interações entre os ligantes selecionados e a proteína escolhida como alvo biológico. O *docking* molecular é uma dessas ferramentas que vem contribuindo na descoberta de caminhos terapêuticos para combater diferentes linhagens tumorais.

O derivado do alcaloide 3,3-diisopentenil-*N*-metil-2,4-quinoldiona, utilizado como ligante frente a proteína c-MYC através de *docking* molecular, apresentou resultados que confirmaram seu potencial como agente antitumoral em trabalhos anteriores descritos na literatura. As forças intermoleculares observadas entre o derivado e a proteína foram principalmente ligações de van der Waals, ligações pi e pontes de hidrogênio, que segundo a literatura favorecem a interação com a proteína. Esses resultados sugerem que os outros derivados, que tiveram suas conformações definidas através de minimização de energia, são potenciais ligantes para estudos de *docking* molecular.

REFERÊNCIAS

ARVANITIS, C.; FELSHER, D. W. **Conditional transgenic models define how MYC initiates and maintains tumorigenesis.** Seminars in cancer biology. Academic Press, p. 313-317, 2006.

BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M.; **Química medicinal: as bases moleculares da ação dos fármacos**, 3ª ed., Artmed: Porto Alegre, 2015.

BERMAN, H. M.; WESTBROOK, J.; FENG, Z.; GILLILAND, G.; BHAT T. N.; WEISSIG H.; SHINDYALOV I. N.; BOURNE P. E. **The Protein Data Bank.** Nucleic Acids Research, Oxford, ano 2000, v. 28, n. 1, 1 jan. 2000. p. 235-242.

BERTOLA, G. Z. **Alcaloides como drogas potenciais no tratamento de gliomas: uma revisão.** ex. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2014, 44p.

BLACKWOOD, E. M.; EISENMAN, R. N. **Max: a helix-loop-helix zipper protein that forms a sequence-specific DNA-binding complex with Myc.** Science, v. 251, n. 4998, p. 1211-1217, 1991.

BROWN, R. D.; HASSAN, M.; WALDMAN, M.. **Combinatorial library design for diversity, cost efficiency, and drug-like character.** Journal of Molecular Graphics and Modelling, v. 18, n. 4-5, p. 427-437, 2000.

CALIXTO, J. B.; JUNIOR, J. M. S. **Desenvolvimento de Medicamentos no Brasil: Desafios The Drug Development in Brazil: Challenges.** Gazeta Médica da Bahia, v. 78, Suplemento 1, p. 98–106, 2008.

CARVALHO, I.; PUPO M. T.; BORGES A. D. L.; BERNARDES L. S. C. **Introdução a modelagem molecular de fármacos no curso experimental de química farmacêutica.** Química Nova. São Paulo, v. 26, n. 3, p. 428-438, 2003.

CHACÓN SIMON, S; WANG, F.; THOMAS, L. R.; PHAN, J.; ZHAO, B.; OLEJNICZACK, E. T.; MACDONALD, J. D.; SHAW, J. G. **Discovery of WD repeat-containing protein 5 (WDR5)–MYC inhibitors using fragment-based methods and structure-based design.** Journal of medicinal chemistry, v. 63, n. 8, p. 4315-4333, 2020.

CHERKASOV, A.; MURATOV, E. N.; FOURCHES, D.; VARNEK, A.; BASKIN, I. I.; CRONIN, M.; TROPSHA, A. **QSAR modeling: where have you been? Where are you going to?**. Journal of medicinal chemistry, v. 57, n. 12, p. 4977-5010, 2014.

DAINA, A.; ZOETE, V. **A boiled-egg to predict gastrointestinal absorption and brain penetration of small molecules**. ChemMedChem, v. 11, n. 11, p. 1117-1121, 2016.

DALLA-FAVERA, R.; BREGNI, M.; ERIKSON, J.; PATTERSON, D.; GALLO, R. C.; CROCE, C. M. **Human c-myc onc gene is located on the region of chromosome 8 that is translocated in Burkitt lymphoma cells**. Proceedings of the National Academy of Sciences, v. 79, n. 24, p. 7824-7827, 1982.

DIRAR, A. I.; WADDAD, A. Y.; MOHAMED, M. A.; MOHAMED, M. S.; OSMAN, W. J.; MOHAMMED, M. S.; HAMDOUN, S. **In silico pharmacokinetics and molecular docking of three leads isolated from Tarconanthus camphoratus L.** International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, v. 8, n. 5, p. 71-77, 2016.

DockThor. Versão 2.0. LNCC-MCTIC, 2019. Disponível em: <https://dockthor.lncc.br/v2/>. Acesso em: 2 jul. 2022.

EFFERTH, T.; OESCH, F. **Repurposing of plant alkaloids for cancer therapy: Pharmacology and toxicology**. In: Seminars in Cancer Biology. Academic Press, p. 143-163, 2021.

FACCHINI, L. M.; PENN, L. Z. **The molecular role of Myc in growth and transformation: recent discoveries lead to new insights**. The FASEB Journal, v. 12, n. 9, p. 633-651, 1998.

FERNANDES, R.; AMADOR, P.; PRUDÊNCIO, C. **β -Lactams: chemical structure, mode of action and mechanisms of resistance**. Reviews in Medical Microbiology. v. 24, n. 1, p. 717, 2013.

FERNANDEZ, J. H.; HAYASHI M. A.; CAMARGO A. C.; NESHICH, G. **Structural basis of the lisinopril-binding specificity in N-and C-domains of human somatic ACE**. Biochemical and biophysical research communications, v. 308, n. 2, p. 219-226, 2003.

GOLAN, David E.; TASHJIAN, Armen H.; ARMSTRONG, Ehrin J. (Ed.). **Principles of pharmacology: the pathophysiologic basis of drug therapy**. Lippincott Williams & Wilkins, 2011.

GONÇALVES, W. R.; PDBEST- **Uma ferramenta de processamento paralelo para aquisição, manipulação, edição e filtragem de arquivos do Protein Data Bank (PDB)**. 2015.

GUEDES, I. A.; DE MAGALHÃES, C. S.; DARDENNE, L. E. **Receptor–ligand molecular docking**. *Biophysical reviews*, v. 6, n. 1, p. 75-87, 2014.

CARVALHO, G. A. U. **Avaliação do Uso de Técnicas de MMGBSA na Triagem Virtual de Bibliotecas de Ligantes para o Desenvolvimento de Fármacos contra Leishmania amazonensis e Leishmania chagasi**. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2011.

HECHT, D.; FOGEL, G. B. **Computational intelligence methods for docking scores**. *Current Computer-Aided Drug Design*, v. 5, n. 1, p. 56-68, 2009.

JEJURIKAR, Bhagyashree L.; ROHANE, Sachin H. **Drug designing in discovery studio**. *Asian J. Res. Chem*, v. 14, n. 2, p. 135-138, 2021.

JORGENSEN, W. L. **Drug discovery: Pulled from a protein's embrace**. *Nature*, v. 466, n. 7302, p. 42-43, 2010.

KESERU, G. M.; MAKARA, G. M. **Hit discovery and hit-to-lead approaches**. *Drug discovery today*, v. 11, n. 15-16, p. 741-748, 2006.

MICHAEL, J. P. **Quinoline, quinazoline and acridone alkaloids**. *Natural product reports*, v. 25, n. 1, p. 166-187, 2008.

MILLER, D.; THOMAS, S.; ISLAM, A.; MUENCH D.; SEDORIS, K. **c-Myc and cancer metabolism**. *Clinical cancer research*, v. 18, n. 20, p. 5546-5553, 2012.

MOGNOL, G. P. **Regulação do proto-oncogene c-myc pelo fator de transcrição NFAT1**. Tese de Doutorado – Pós-graduação em Oncologia, Divisão de Biologia Celular, Instituto Nacional de Câncer, Rio de Janeiro, 2008.

NEGRETE, GUADALUPE ARISBETH MUÑOZ. **Síntesis de compuestos zwitteriônicos quinolínicos**. Trabalho de Conclusão de Curso, BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA, México, 2020.

NUNES, F. M.; BARROS-FILHO, B. A.; DE OLIVEIRA, M. C. F.; MAFEZOLI, J.; ANDRADE-NETO, M.; DE MATTOS, M. C.; SILVEIRA, E. R.; PIRANI, J. R. **Total Assignment of ^1H and ^{13}C NMR Spectra of the Alkaloid 3,3-diisopentenyl-N-methyl-2,4-quinoldione and Novel Reaction Derivatives**. *Magnetic Resonance in Chemistry* v. 43, n. 2: 180-83, 2005.

PRIETO-MARTÍNEZ, F. D.; ARCINIEGA, M.; MEDINA-FRANCO, J. L. **Molecular docking: current advances and challenges**. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, v. 21, n. S1, p. 65-87, 2019.

PRIOR, R. L.; WU, X.; SCHAICH, K. **Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements**. *Journal of agricultural and food chemistry*, v. 53, n. 10, p. 4290-4302, 2005.

HEHRE, W. J.; DEPPMEIER J.; KLUNZINGER P.E. **PRO, PC Spartan. 1.0. 5**; Wavefunction. Inc.: Irvine, 2000. Disponível em: <https://www.wavefun.com/products>. Acesso em: 1 jul. 2022.

PDB. **PROTEIN Data Bank**. San Diego: RCSB, 1971. Disponível em: <https://www.rcsb.org/>. Acesso em: 2 jul. 2022.

RABELLO, M. M. **Comparação metodológica de abordagens *in silico* no estudo de moléculas antiofídicas através de sua ação em toxinas isoladas de venenos de serpentes**. 2012. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco.

SAMMAK, S.; HAMDANI N.; GORREC F.; ALLEN M. D.; FREUND S. M.; BYCROFT M.; ZINZALLA G. **Crystal Structures and Nuclear Magnetic Resonance Studies of the Apo Form of the c-MYC:MAX bHLHZip Complex Reveal a Helical Basic Region in the Absence of DNA**. *Biochemistry* 58, 3144-3154 (2019).

SHANG, X. F.; MORRIS-NATSCHKE, S. L.; LIU Y.; GUO X.; XU X.; GOTO M.; LI J.; **Biologically active quinoline and quinazoline alkaloids part I.** Medicinal research reviews, v. 38, n. 3, p. 775-828, 2018.

SOUCEK, L.; WHITFIELD J. R.; SODIR N. M.; MASSÓ-VALLÉS D.; SERRANO E.; KARNEZIS A. N.; SWIGART L. B.; EVAN G. I.; **Inhibition of Myc family proteins eradicates KRas-driven lung cancer in mice.** Genes & development, v. 27, n. 5, p. 504-513, 2013.

SOUSA, S.F.; RIBEIRO A.J.M.; COIMBRA, J.T.S.; NEVES R.P.P.; MARTINS, S.A.; MOORTHY N.S.H.N.; FERNANDES P.A. **PROTEIN-LIGAND DOCKING IN THE NEW MILLENNIUM – A RETROSPECTIVE OF 10 YEARS IN THE FIELD.** Current Medicinal Chemistry, 2013.

THOMPSON, E. B. **The many roles of c-Myc in apoptosis.** Annual review of physiology, v. 60, p. 575, 1998.

VOLKAMER, A.; GRIEWEL, A.; GROMBACHER, T.; RAREY, M. **Analyzing the topology of active sites: On the prediction of pockets and subpockets.** Journal of Chemical Information and Modeling, v. 50, n. 11, p. 2041–2052, 2010.