

Benzofenona Prenilada como candidata no tratamento do mal de Alzheimer: uma abordagem in silico

Prenylated Benzophenone as a candidate in the treatment of Alzheimer's disease: an in silico approach

DOI:10.34117/bjdv8n12-063

Recebimento dos originais: 04/11/2022

Aceitação para publicação: 07/12/2022

Amanda Batista Nascimento

Graduada em Química Licenciatura

Instituição: Universidade Estadual do Ceará (UECE)

Endereço: Av. Dr. Silas Munguba, 1700, Itaperi, Fortaleza – Ceará, CEP: 60714-903

E-mail: profqamanda@gmail.com

Natália Chaves Gondim Vieira

Doutorado em Biotecnologia pela Universidade Estadual do Ceará (UECE)

Instituição: Universidade de Fortaleza

Endereço: Av. Washington Soares, 1321, Edson Queiroz, Fortaleza

E-mail: natyvieira@alu.ufc.br

Ana Cristina de Oliveira Monteiro Moreira

Doutorado em Bioquímica pela Universidade Estadual do Ceará (UECE)

Instituição: Universidade de Fortaleza

Endereço: Av. Washington Soares, 1321, Edson Queiroz, Fortaleza

E-mail: acomoreira@unifor.br

Francisco Ernani Alves Magalhães

Pós-Doutorado em Ciências Médicas pela Universidade de Fortaleza

Instituição: Universidade Estadual do Ceará (UECE)

Endereço: Rua Solón Medeiros, S/N, Tauá - CE

E-mail: ernani.magalhaes@uece.br

Micheline Soares Costa Oliveira

Doutora em Biotecnologia

Instituição: Universidade Estadual do Ceará (UECE)

Endereço: Av. Dr. Silas Munguba, 1700, Itaperi, Fortaleza – Ceará, CEP: 60714-903

E-mail: micheline.oliveira@uece.br

Maria da Conceição Tavares Cavalcanti Liberato

Doutorado em Estudo Químico e Bioprospecção de Produtos da Abelha *Apis mellifera* L. do Estado do Ceará realizado pela Universidade Estadual do Ceará (UECE)

Instituição: Universidade Estadual do Ceará (UECE)

Endereço: Av. Dr. Silas Munguba, 1700, Itaperi, Fortaleza – Ceará, CEP: 60714-903

E-mail: conceicao.liberato@uece.br

Antonio Eufrásio Vieira Neto

Pós-doutorado em Ciências Médicas pela Universidade de Fortaleza

Instituição: Universidade de Fortaleza

Endereço: Av. Washington Soares, 1321, Edson Queiroz, Fortaleza

E-mail: aevneto@gmail.com

RESUMO

A Doença de Alzheimer é uma doença neurodegenerativa progressiva que se caracteriza pela deterioração cognitiva e da memória. Este trabalho teve como objetivo avaliar, *in silico*, a atividade antiacetilcolinesterase da benzofenona prenilada, composto presente na própolis vermelha, produzida por abelhas *Apis mellifera*. Foi realizado o docking molecular através do software HEX 8.0.0. Foi realizada uma busca dos sítios de ligações possíveis entre a benzofenona prenilada (ligante) e a enzima acetilcolinesterase (receptor). O ligante teve afinidade com o receptor, pois foram observadas 6 ligações químicas, de até 3.1 angstroms, com o recrutamento de 4 resíduos de aminoácidos (His287, Glu292, Tyr341 e Gly342) e uma glicosilação do receptor presente na estrutura tridimensional (n-acetil-glucosamina). Também se observa no sítio, a compatibilidade espacial e estabilização da enzima acetilcolinesterase a partir do encaixe do ligante e sua consequente redução da flexibilidade. Dessa forma, pode-se concluir que a benzofenona prenilada tem potencial antiacetilcolinesterase no estudo *in silico*, sendo capaz de agir como adjuvante, reduzindo a degradação da acetilcolina, o que pode ser um fator importante ao combate ou retardamento dos sintomas do mal de Alzheimer

Palavras-chave: própolis vermelha das abelhas *Apis mellifera*, benzofenona prenilada, Alzheimer, docking molecular.

ABSTRACT

Alzheimer's disease is a progressive neurodegenerative disease characterized by cognitive and memory deterioration. This work aimed to evaluate, *in silico*, the anti-acetylcholinesterase activity of prenylated benzophenone, a compound present in red propolis, produced by *Apis mellifera* bees. Molecular docking was performed using HEX 8.0.0 software. A search for possible binding sites between the prenylated benzophenone (ligand) and the enzyme acetylcholinesterase (receptor) was performed. The ligand had affinity for the receptor, as 6 chemical bonds were observed, up to 3.1 angstroms long, with the recruitment of 4 amino acid residues (His287, Glu292, Tyr341 and Gly342) and a glycosylation of the receptor present in the three-dimensional structure (n-acetylglucosamine). Also observed in the site, the spatial compatibility and stabilization of the acetylcholinesterase enzyme from the docking of the ligand and its consequent reduction of flexibility. Thus, it can be concluded that the prenylated benzophenone has anti-acetylcholinesterase potential in the *in silico* study, being able to act as an adjuvant, reducing the degradation of acetylcholine, which may be an important factor in combating or delaying the symptoms of Alzheimer's disease

Keywords: red propolis from *Apis mellifera* bees, prenylated benzophenone, Alzheimer's disease, molecular docking.

1 INTRODUÇÃO

A Doença de Alzheimer (DA) é a principal doença neurodegenerativa que acomete indivíduos a partir dos 65 anos, ou precocemente entre os 30 e 50 anos. Em pesquisa realizada entre os anos de 2010 a 2019, o SIM registrou 164.976 óbitos nas cinco regiões brasileiras. Onde, a região Sudeste obteve 90.288 (54, 72%) de mortes por Alzheimer, sendo o maior estado com número de mortes (MATOS et al., 2019). Teixeira et al., (2012) destaca que no estado do Rio de Janeiro, obteve um total de 2.992 óbitos, com uma maior prevalência no sexo feminino (65%).

A DA é caracterizados pela presença de placas senis e emaranhados neurofibrilares, causando perda progressiva e irreversível da memória e da capacidade cognitiva, consequência do mau funcionamento de neurotransmissores, diminuição da plasticidade sináptica e morte celular neuronal. Estudos indicam que o excesso de radicais livres pode estar vinculado ao surgimento da DA e de outras doenças neurodegenerativas e de doenças associadas ao estresse oxidativo (FERREIRA et al., 1997). Na DA, os fármacos inibidores da colinesterase promovem um alívio dos sintomas, durante um período limitado de tempo. Objetivando o processo de inibição da enzima acetilcolinesterase, foi avaliada a ação da benzofenona prenilada, por meio do software: HEX 8.0.0.

A própolis vermelha é produzida pelas abelhas a partir do exsudato vermelho da superfície dos buracos feitos pelos insetos no tronco de *Dalbergia ecastophyllum* (L) Taub., popularmente conhecida como “rabo-de-bugio” (MENEZES, 2019). A composição química da própolis pode variar de acordo com a origem botânica das plantas visitadas pelas abelhas, em conjunto com secreções salivares das abelhas, cera e pólen (ARAÚJO et al., 2016), os compostos como isoflavona e flavonoides, álcoois triterpênicos, derivados de fenilpropeno chalconas e benzofenonas polipreniladas são encontrados na própolis vermelha (TRUSHEVA et al.,2006), atribuindo a esse produto propriedades biológicas que vem despertando o interesse nas pesquisas, com relação ao combate e prevenção de uma série de doenças. No presente estudo destacamos a benzofenona prenilada, um composto fenólico, que de acordo com Castelo (2018) é conhecida como uma substância rica em atividades biológicas.

A utilização de produtos naturais na prevenção e combate de doenças é recorrente, e teve início desde à antiguidade. Atualmente existem muitos estudos referentes à utilização de tais produtos naturais. A própolis é considerada promissora em características químicas e biológicas devido à composição química complexa e variável,

várias são as atividades biológicas relatadas na literatura, tais como antimicrobiana, anticariogênica, citotóxica, anti-inflamatória, imunomodulatória, antioxidante e antitumoral (CABRAL et al., 2009).

Tendo em vista seu elevado potencial farmacológico, foi realizada uma avaliação *in silico* das interações biomoleculares entre a benzofenona prenilada (ligante) e a acetilcolinesterase (receptor), visando o uso da própolis como alternativa de complemento no tratamento do Alzheimer, a partir do uso de recursos tecnológicos e simulações computacionais.

2 METODOLOGIA

2.1 OBTENÇÃO DAS ESTRUTURAS TRIDIMENSIONAIS

A estrutura do receptor (acetilcolinesterase) foi obtida a partir de pesquisa no banco de dados Protein Data Bank (PDB - <https://www.rcsb.org/>), onde foi possível a obtenção do modelo tridimensional no formato “*.pdb”, identificado pelo código: 4EY4. A estrutura tridimensional do receptor foi obtida por difração de raios-x com resolução de 2.16 angstroms (CHEUNG et al., 2012).

O ligante (benzofenona prenilada) teve sua estrutura tridimensional obtida a partir de modelagem molecular com o software Chem3D e teve sua energia minimizada para manter a estrutura mais estável, onde foi gerado o modelo tridimensional no formato “*.pdb”.

2.2 DOCKING MOLECULAR

A interação entre a benzofenona prenilada e a acetilcolinesterase foi analisada *in silico* por meio de simulação de docking molecular, que consiste na utilização de um algoritmo computacional com um software específico para acoplamento de duas moléculas, buscando formar uma complexação estável. O docking foi realizado por meio do software: HEX 8.0.0 (MACINDOE et al., 2008), que realiza os ajustes automaticamente, buscando todos os sítios de ligações possíveis com base na energia de associação entre a benzofenona prenilada (ligante) e a enzima ACETILC acetilcolinesterase (receptor) em determinadas posições.

Os complexos obtidos foram analisados usando PyMol v1.4.7 (DELANO, 2010), que permitiu uma investigação detalhada dos complexos formados: energia de associação, ligação química, resíduos de aminoácidos envolvidos e nuances conformacionais.

Os parâmetros usados dentro da interface do software para o processo de adaptação foram: “Tipo de correlação: somente forma”; “Dispositivo de Cálculo - GPU (unidades de processamento gráfico)”; “Modo FFT - 3D”; “Dimensão da grade - 0,6”; “Alcance do receptor – 180”; “Faixa do ligante - 180”; “Faixa de torção - 360” e “faixa de distância – 40”.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

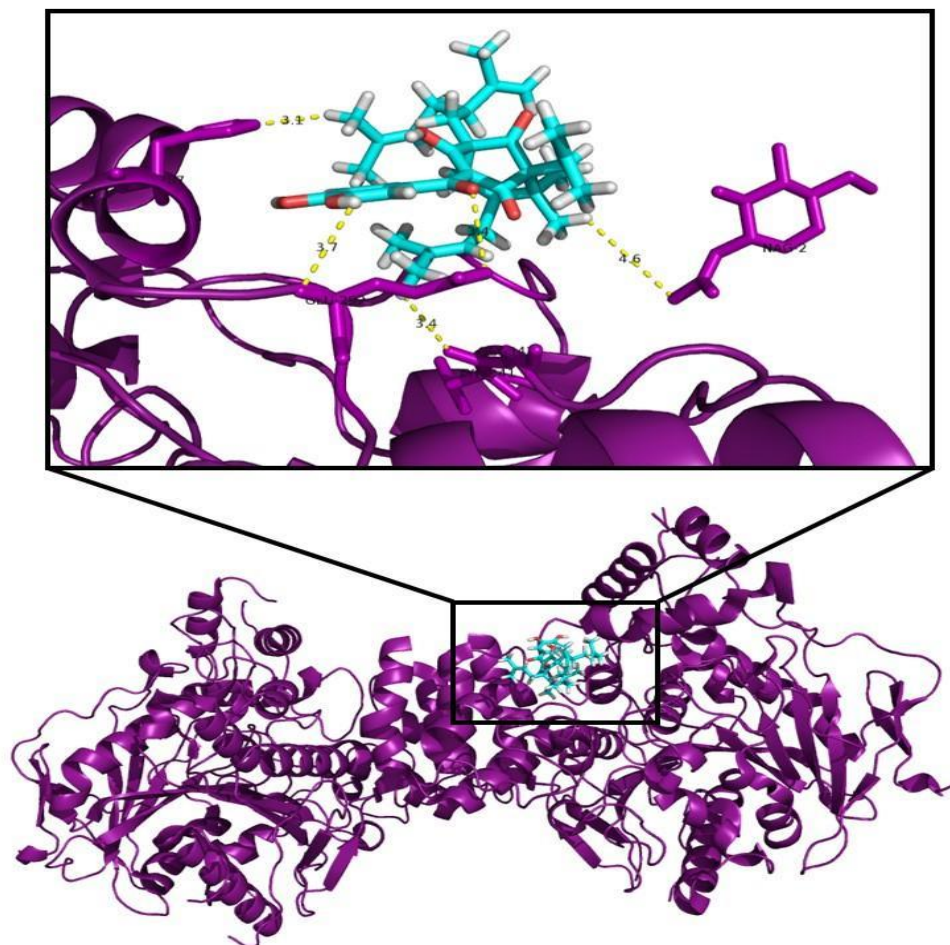
Dentre as 50.000 possibilidades de complexação prospectadas pelo algoritmo do software, os 10 clusters mais energéticos da benzofenona prenitada foram analisados. Destes complexos, 5 ficaram sobrepostos no mesmo sítio, enquanto outros 5 clusters ficaram em regiões próximas, caracterizando alta especificidade (Figura 1).

Figura 1: Sobreposição dos 5 clusters mais energéticos no mesmo sítio de interação da enzima acetilcolinesterase, o que evidencia a especificidade do ligante (benzofenona prenitada) por esta região, rica em estruturas alfa-hélices.



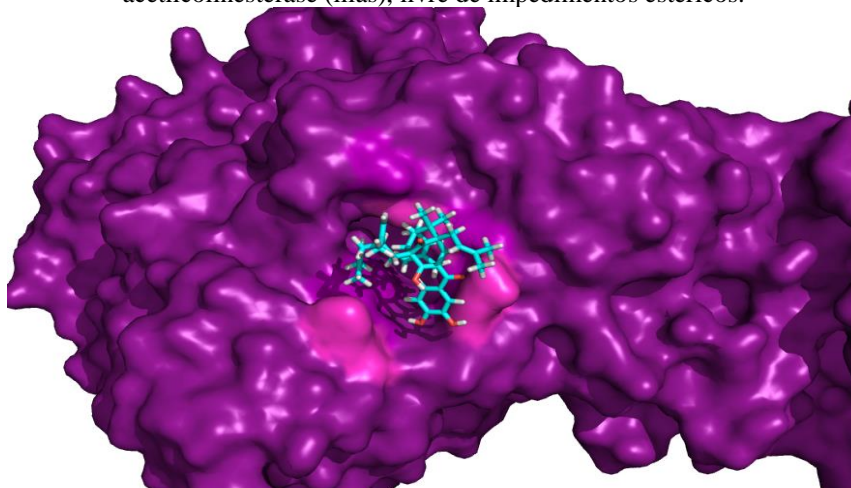
Em relação ao cluster mais energético e mais estável, foram observadas 6 ligações químicas, de até 3.1 angstroms, com o recrutamento de 4 resíduos de aminoácidos (His287, Glu292, Tyr341 e Gly342) e uma glicosilação do receptor presente na estrutura tridimensional (n-acetil-glucosamina). Também se observa no sítio, a compatibilidade espacial e estabilização da enzima acetilcolinesterase a partir do encaixe do ligante e sua consequente redução da flexibilidade (Figura 2).

Figura 2: Sítio de ligação da benzofenona prenilada (azul) com a enzima acetilcolinesterase (lilás), estabelecendo 5 ligações químicas (3.1 a 4.6 angstroms) com 4 resíduos de aminoácidos do receptor, além de uma glicosilação (NAG), presente na estrutura tridimensional obtida por métodos cristalográficos.



Muitas extremidades reativas da benzofenona prenilada sofrem estabilização química com ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas, o que pode explicar o encaixe do ligante sem impedimentos estéricos nem bloqueios espaciais dos resíduos do “pocket” estrutural (Figura 5). A sua natureza biológica imersa em outros componentes químicos da própolis vermelha (CASTELO, 2018), também sugere propriedades físico-químicas favoráveis à complexação com receptores biológicos proteicos.

Figure 3: Encaixe da benzofenona prenilada (azul) em um “pocket estrutural” do receptor acetilcolinesterase (lilás), livre de impedimentos estéricos.



Com base nos dados obtidos com o docking molecular da benzofenona prenilada, foi observado que houve grande afinidade por uma região próxima ao sítio catalítico, que é descrito por alguns autores como a tríade entre Ser200, His440 e Glu327 (DVIR et al, 2010), o que permite sugerir que a atividade da enzima pode variar a partir da sua expressão (nativa, expressão heteróloga e obtida por modelagem molecular), pois pode modificar o sítio catalítico em relação ao seu enovelamento (CHEUNG, et al 2012). Sabendo disso, é válido ressaltar que o ligante (benzofenona prenilada) teve afinidade por uma região rica em estruturas secundárias alfa-hélice e livre de resíduos capazes de bloquear espacialmente a interação do ligante, o que proporciona estabilização estrutural e redução da flexibilidade do receptor.

Na análise do cluster mais energético e mais estável entre a benzofenona prenilada e a acetilcolinesterase, as ligações químicas, de até 3.1 angstroms e o recrutamento de 4 resíduos de aminoácidos fortalecem a compatibilidade espacial, promovendo um encaixe mais centralizado da benzofenona prenilada. Com isso, pode-se descrever que, um dos fatores que colaborou com a formação do complexo, é a presença de uma glicosilação do receptor (n-acetil-glucosamina) e sua posição no enovelamento tridimensional, que favoreceu o reconhecimento das extremidades reativas da benzofenona prenilada e promoveu um melhor ancoramento.

As evidências químicas, espaciais e energéticas observadas na interação entre a enzima acetilcolinesterase e a benzofenona prenilada (um dos compostos majoritários da própolis vermelha) sugere atividade biológica de inibição, e isso também se deve também às propriedades físico-químicas do ligante.

4 CONCLUSÃO

Dessa forma, pode-se concluir que a benzofenona prenilada tem potencial antiacetilcolinesterase no estudo *in silico*, sendo capaz de agir como adjuvante, reduzindo a degradação da acetilcolina, o que pode ser um fator importante ao combate ou retardamento dos sintomas do mal de Alzheimer. No entanto, existem poucos estudos *in silico* e *in vivo* com a benzofenona prenilada como também com outros compostos majoritários da própolis vermelha, o que revela a necessidade de se intensificar mais pesquisas abordando esta possível ferramenta farmacológica.

REFERÊNCIAS

ARAÚJO et al. **Physicochemical properties and antioxidant capacity of propolis of stingless bees (Meliponinae) and Apis from two regions of Tocantins, Brazil.** *Acta Amazonica*.v. 46(1) 2016: 61 – 68.

CASTELO, Karen Farias Alves. **Estudo químico dos extratos ativos de bacuri (Platonia insignis).** 126 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2018.

CABRAL, Ingridy Simone Ribeiro et al. **Composição fenólica, atividade antibacteriana e antioxidante da própolis vermelha brasileira.** *Revista Química Nova*. v. 32, n. 6, p. 1523-1527, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000600031>.

CHEUNG, Jonah *et al.* Structures of human acetylcholinesterase in complex with pharmacologically important ligands. **Journal of Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 55, n. 22, p. 10282–10286, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/jm300871x>.

DELANO, W L. The PyMOL Molecular Graphics System, Version 1.8. **Schrödinger LLC**, [s. l.], p. <http://www.pymol.org>, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/hr.2014.17>.

DVIR, Hay *et al.* Acetylcholinesterase: From 3D structure to function. **Chemico-Biological Interactions**, [s. l.], v. 187, n. 1–3, p. 10–22, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2010.01.042>

FERREIRA, A.L.A. e Matsubara, L.S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira** [online]. 1997, v. 43, n. 1, p. 61-68. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0104-42301997000100014>>.

MACINDOE, Gary *et al.* HexServer: An FFT-based protein docking server powered by graphics processors. **Nucleic Acids Research**, [s. l.], v. 38, n. SUPPL. 2, p. 445–449, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/nar/gkq311>

MATOS, F. D. et al. Epidemiological characterization of Alzheimer mortality in Brazil from 2010 to 2019. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 11, 2021 Disponível em: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i11.19316>.

MENEZES, C. M. **Potencial fotoprotetor e genoprotetor da própolis vermelha produzida por apis mellifera no semiárido do rio grande do norte, Brasil.** 46 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) Mossoró, Universidade Federal Rural Do Semi-Árido, 2019.

TEIXEIRA, J *et al.* Profile of mortality from Alzheimer's disease: Rio de Janeiro 2000-2006. **Alzheimer's & Dementia**, v.8, n.4, p. 314-314, 2012.

TRUSHEVA, B. et al. **Bioactive constituents of Brazilian red propolis. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 3, n. 2, p. 249-254, 2006.