

ESTUDOS DE MODELAGEM MOLECULAR PARA PREVISÃO *IN SILICO* DOS PROVÁVEIS METABÓLITOS HUMANOS DE FLAVONÓIDES

Mariana Côrtes de SOUSA* ; Carolina Horta ANDRADE;

*nani.cortes@gmail.com.

LabMol, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Goiás – UFG

Palavras chave: metabolismo, flavonóides, CYP2C9, docking.

INTRODUÇÃO

A descoberta e o desenvolvimento de novos fármacos consistem em um processo complexo, em que é necessária a integração de várias áreas estratégicas como inovação, conhecimento, tecnologia, gerenciamento e altos investimentos em Pesquisa e Desenvolvimento (P&D). O estudo do metabolismo de fármacos constitui uma etapa importante durante o seu desenvolvimento, sendo necessário para a aprovação de seu uso em humanos¹.

Nos últimos anos, investigações sobre a atividade de flavonóides demonstraram sua capacidade de prevenção potencial de diversas patologias, dentre elas doenças cardiovasculares, desordens inflamatórias, infecções virais, diabetes e desordens neurológicas, além de sua conhecida ação antioxidante. A elucidação do metabolismo de flavonóides é ponto primordial para avaliação e classificação da sua segurança e eficácia como candidatos a fármacos.

As principais enzimas responsáveis pelo metabolismo de fármacos na fase I possuem como principais representantes a superfamília do citocromo P450 (CYP). As principais isoformas de CYP envolvidas no processo metabólico *in vivo* de flavonóides são: CYP1A2, CYP3A4, CYP2C9 e CYP2D6².

Neste trabalho a modelagem molecular foi aplicada através de estratégias baseadas no ligante e no receptor para a previsão *in silico* dos sítios de metabolismo dos flavonóides naringenina, naringina, quercetina e rutina (Figura 1), com as principais isoformas da superfamília do citocromo P450 (CYP2C9 e CYP1A2).

MATERIAL E MÉTODOS

Neste trabalho, empregou-se o programa MetaPrint2D, um algoritmo para a previsão dos sítios de metabolismo baseado na estrutura de ligantes conhecidos³. Assim, foi possível a previsão de metabólitos de fase I para as moléculas da

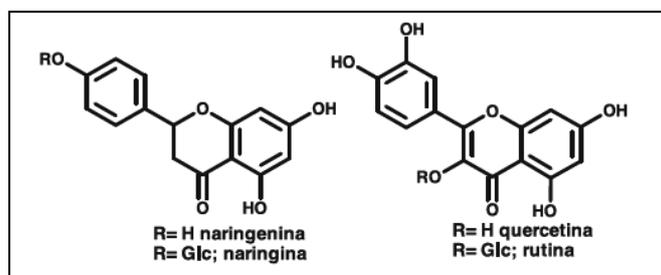


Figura 1. Estrutura dos flavonóides estudados.

quercetina, naringenina, naringina e rutina. Em uma segunda etapa, utilizou-se a estrutura cristalográfica do citocromo 2C9 complexada com o flurbiprofeno (código PDB: 1R9O) e 1A2 complexada com alfa-naftoflazona (código PDB: 2HI4) para os estudos de *docking*. Os cálculos de *docking* foram realizados empregando-se o programa AUTODOCK 4.2, utilizando o Algoritmo Genético Lamarckiano. Para a macromolécula os hidrogênios polares foram adicionados e as cargas Kollman calculadas. A caixa de interação foi definida no programa AUTOGRID, sendo de 54Å x 60Å x 50Å (direções x, y e z) para CYP2C9 e 58Å x 56Å x 70Å para CYP1A2. As estruturas de quercetina (código PDB: 3NVY), rutina (código PDB: 1RY8) e naringenina (código PDB: 2UXU) foram isoladas e otimizadas utilizando o campo de força MMFF94, no programa MOE 2009 (Chemical Computing Group, Inc.), até atingir um gradiente inferior a 0,05 kcal.mol.Å. Foram selecionadas as melhores poses/conformações para cada flavonóide e submetidas a procedimentos de minimização de energia utilizando o campo de força OPLS2005. Posteriormente, foram realizadas simulações de dinâmica molecular (DM) de 10 ps no programa Desmond v. 2.2. Os átomos que apresentaram uma distância cataliticamente reativa do heme, ou seja, de até 5 Å, foram selecionados como possíveis sítios metabólicos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As 100 conformações obtidas de cada flavonóide, após os estudos de docking de CYP2C9 e CYP1A2, foram classificadas de acordo com sua capacidade de reatividade com o Heme, e definidos seus principais sítios de metabolismo (Tabela 1 e 2).

As poses selecionadas apresentaram valores de distância inferiores a 5 Å, entre os diversos sítios de metabolismo possíveis e o grupamento Heme. As principais reações apresentadas para os flavonóides em estudo foram as de hidroxilação, desalquilação e o-desalquilação.

Tabela 1 – Distâncias e energias de ligação entre as poses selecionadas e o Ferro do grupamento Heme de CYP2C9.

| Flavonóide | Pose # | Sítios de Metabolismo | d (Å) | Tipo de reação | ΔG_{calc}^b (kcal/mol) |
|-------------|--------|-----------------------|-------|------------------------|---------------------------------------|
| Naringenina | 1 | C3'-hidroxilação | 3.26 | hidroxilação aromática | -5.98 |
| | | C5'-hidroxilação | 3.98 | hidroxilação aromática | |
| | 2 | C3-hidroxilação | 4.35 | hidroxilação aromática | -5.83 |
| Naringina | 1 | C9'-o-desalquilação | 4.96 | o - desalquilação | -2.92 |
| | 2 | O7'-o-desalquilação | 3.92 | o - desalquilação | -2.07 |
| | 3 | C5'-hidroxilação | 3.71 | hidroxilação aromática | -1.7 |
| | | C3'-hidroxilação | 3.22 | hidroxilação aromática | |
| | 4 | C3-hidroxilação | 3.17 | hidroxilação aromática | 1.72 |
| | 5 | C8'-desalquilação | 3.93 | desalquilação | 5.42 |
| | 6 | C10'-desalquilação | 4.97 | desalquilação | 7.64 |
| Rutina | 1 | C5'-hidroxilação | 2.85 | hidroxilação aromática | -2.39 |
| | 2 | O7'-o-desalquilação | 3.91 | o - desalquilação | 11.68 |
| | | C8'-desalquilação | 4.40 | desalquilação | |
| Quercetina | 1 | C2' - hidroxilação | 4.34 | hidroxilação aromática | -6.77 |

Tabela 2 – Distâncias e energias de ligação entre as poses selecionadas e o Ferro do grupamento Heme de CYP1A2.

| Flavonóide | Pose # | Sítios de Metabolismo | d (Å) | Tipo de reação | ΔG_{calc}^b (kcal/mol) |
|------------|--------|--------------------------|-------|------------------------|---------------------------------------|
| Rutina | 1 | O11' - desalquilação | 4.04 | desalquilação | 45.92 |
| | | C12' - o - desalquilação | 3.67 | o - desalquilação | |
| | 2 | O7' - o - desalquilação | 4.64 | o - desalquilação | 30.03 |
| Quercetina | 1 | C2' - hidroxilação | 4.51 | hidroxilação aromática | -7.42 |

CONCLUSÕES

As baixas energias de ligação apresentadas pela interação de CYP2C9 com quercetina, rutina, naringina e naringenina, corroboram a participação dessa isoforma no metabolismo de xenobióticos em geral. O mesmo é observado para a interação entre CYP1A2 e quercetina, porém quando o flavonóide metabolizado é a rutina, altas energias de ligação foram identificadas, sugerindo a seletividade dessa isoforma em relação a moléculas específicas.

Os estudos de modelagem molecular através de estratégias baseadas no ligante e no receptor para a previsão *in silico* dos sítios de metabolismo para os flavonóides quercetina, rutina, naringina e naringenina tem apresentado-se satisfatórios no que se refere à capacidade reativa observada. Para todos os flavonóides estudados foram obtidas poses passíveis de metabolismo, com baixas energias de ligação.

Os estudos de CYP1A2 com naringina e naringenina também devem ser realizados para que possamos estabelecer um estudo comparativo mais complexo em relação à seletividade e reatividade dos flavonóides com algumas das isoformas da superfamília do citocromo P450.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

¹GUIDO, R.V.C.; OLIVA, G.; ANDRICOPULO, A.D. Virtual Screening and Its Integration with Modern Drug Design Technologies. *Curr. Med. Chem.*, v.15, p.37-26, 2008.

²BREINHOLT, V. M.; OFFORD, E. A.; BROUWER, C.; NIELSEN, S. E.; BRØSEN, K.; FRIEDBERG, T. In vitro investigation of cytochrome P450-mediated metabolism of dietary flavonoids. *Food Chem Toxicol*, v. 40, p. 609–616, 2002.

³CARLSSON, L.; SPJUTH, O.; ADAMS, S.; GLEN, R. C.; BOYER, S. BMC, *Bioinformatics*, v.11, p.362, 2010.