



Estudo teórico-computacional das propriedades estruturais, reativas, eletrônicas e do potencial inibitório das topoisomerasas I e II de alcaloides isolados de *Xylopia laevigata* por meio de cálculos DFT e docking molecular

Victor Lima Tananta

Universidade Federal do Amazonas

victortananta@live.com

Renyer Alves Costa

Universidade Federal do Amazonas

renyercosta@gmail.com

RESUMO

O presente trabalho analisou computacionalmente os alcaloides aporfínicos anonaina, roemerina e xilopina, previamente isoladas da planta *Xylopia laevigata*, utilizando a teoria do funcional de densidade (density functional theory-DFT) e cálculos de docking molecular para avaliar suas propriedades químico-quânticas, reativas e biológicas. Os orbitais HOMO e LUMO, índices de reatividade local e global, bem como os mapas de potencial eletrostático molecular e energia de ionização local média, obtidos em nível de teoria B3LYP-D3(BJ)/6-311++G(2df, 2pd), demonstraram reatividades variadas para as estruturas, onde as regiões propensas a ataques nucleofílicos e eletrofílicos compreenderam os anéis A, B, D, E (anonaina), anéis C, D, E (roemerina) e anéis A, B, E (xilopina). Foram obtidas as energias livres de solvatação dos alcaloides em meio aquoso, acetona, diclorometano e metanol, onde revelaram que o diclorometano é o solvente preferível para a solubilização dessas estruturas. Utilizando o programa Autodock Vina, foram realizadas simulações de docking molecular com as enzimas DNA Topoisomerase I e II, enzimas alvo para o tratamento do câncer, onde revelaram que os alcaloides anonaina, roemerina e xilopina inibem preferencialmente a enzima Topoisomerase I (-10,1, -9,8 e -10,6 kcal/mol, respectivamente). Os resultados obtidos sustentam os alcaloides aporfínicos como potenciais candidatos para o tratamento do câncer.

Palavras-Chave: alcaloides aporfínicos; teoria do funcional de densidade; docking molecular



1. INTRODUÇÃO

A *Xylopi* *laevigata* (Mart.) R.E. Fries, proveniente da família Annonaceae, é uma planta conhecida popularmente como "meiú" ou "pindaíba" e são requeridas pela medicina popular no Nordeste do Brasil para tratar doenças cardíacas, distúrbios dolorosos e condições inflamatórias (MENEZES et al., 2016). A análise química dos caules de *X. laevigata* implicou no isolamento de vários alcaloides, incluindo os alcaloides aporfínicos anonaina (A1), roemerina (R1) e xilopina (X1), sendo X1 o alcaloide com maior atividade antitumoral, A1 com atividade média e R1 com atividade nula (MENEZES et al., 2016; SANTOS et al., 2017). Nesse contexto, a proposta do presente trabalho foi realizar uma análise computacional das estruturas dos alcaloides A1, R1 e X1, previamente isolados da *X. laevigata*, utilizando a teoria do funcional de densidade (DFT), com o propósito de determinar suas propriedades estruturais e eletrônicas, incluindo os orbitais HOMO e LUMO, mapas de potencial eletrostático e energia de ionização local média (MEP e ALIE), índices de reatividade local e global, energia livre de solvatação em água, acetona, diclorometano e metanol. Ainda, através da técnica de docking molecular, que analisa computacionalmente as interações de pequenas moléculas com os sítios ativos de enzimas, o estudo visou avaliar a interação dos três alcaloides com as enzimas alvo para o tratamento do câncer Topoisomerases I (TOPO-I) e II (TOPO-II). A inibição das Topoisomerases por alcaloides aporfínicos é um assunto recorrente no meio científico (LIU et al., 2013; BRANCHES et al., 2019; COSTA et al., 2021), nesse âmbito, a técnica de docking molecular foi utilizada para investigar como as propriedades estruturais de tais moléculas afetam a interação com o sítio de clivagem dessas enzimas.

2. OBJETIVO GERAL

Avaliar os alcaloides anonaina, romereina e xilopina por meio da teoria do funcional de densidade (DFT), seus parâmetros geométricos, orbitais de fronteira (HOMO e LUMO) para determinar os índices de reatividade global (dureza, potencial químico, eletronegatividade e índice de eletrofilicidade), mapas de potencial eletrostático molecular (MEP), energia de ionização local média (ALIE) e os índices de reatividade local (índices de Fukui). Ainda, serão avaliadas suas interações com as enzimas DNA Topoisomerases I (TOPO-I) e II (TOPO-II) por meio da técnica de docking molecular.

3. METODOLOGIA

3.1 Cálculos de DFT

Os cálculos quântico teóricos foram feitos usando o software Gaussian 09 (FRISCH, 2009) no sistema operacional Ubuntu via DFT no nível de teoria B3LYP-D3(BJ)/6-311++G(2df, 2pd). Os Orbitais Moleculares de Fronteira foram calculados para os alcaloides A1, R1 e X1 em meio aquoso, acetona, diclorometano e metanol. Os mapas de potencial eletrostático molecular (MEP) e de energia de ionização local média (ALIE) foram feitos com o programa Multiwfn (LU; CHEN, 2012). O modelo de solvatação usado foi o modelo de solvatação baseado na densidade de Truhlar (SMD), parametrizado usando o protocolo IEF-PCM (MARENICH; CRAMER; TRUHLAR, 2009), onde foram calculadas as energias livres de solvatação dos alcaloides em água, metanol, acetona e diclorometano.

3.2 Cálculos de docking molecular

Os cálculos de docking molecular foram realizados usando o software Autodock Vina (TROTT; OLSON, 2010), a fim de avaliar a inibição das enzimas DNA Topoisomerase humana I (TOPO-I) e Topoisomerase humana II (TOPO-II) pelos alcaloides A1, R1 e X1. As estruturas 3D das enzimas foram obtidas a partir do site Protein Data Bank (PDB) sob os códigos 1RRJ (TOPO-I) (CHRENCIK et al., 2004) e 5GWK (TOPO-II) (WANG et al., 2017). O protocolo de docagem procedeu-se removendo as



moléculas de água e o inibidor, seguido pela delimitação de um grid box com dimensões $16\text{\AA} \times 20\text{\AA} \times 14\text{\AA}$ centrada no sítio ativo da enzima, com coordenadas $X = 4,360$, $Y = -5,301$, $Z = 9,305$ (TOPO-I) e um grid box de $16\text{\AA} \times 16\text{\AA} \times 16\text{\AA}$, com coordenadas $X = 29,049$, $Y = -20,782$, $Z = -59,190$ (TOPO-II).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir da análise dos orbitais de fronteira verificou-se que as superfícies dos orbitais HOMO dos alcaloides A1, R1, e X1 são ligeiramente distintas, enquanto seus orbitais LUMO são semelhantes, revelando que suas regiões reativas são semelhantes. Os gaps de energia obtidos foram: 4,570 (A1), 4,520 (R1) e 4,611 (X1). Os demais parâmetros avaliados indicaram que os alcaloides em questão são moléculas moles, polarizáveis e que X1 é menos predisposto a aceitar elétrons, ao passo que A1 possui maior tendência a aceitar prótons. A análise do MEP, ALIE e índices de Fukui permitiu determinar os locais mais vulneráveis a ataques nucleofílicos, eletrofílicos e de radicais livres, situados nos anéis A, B, D, E (A1), C, D, E (R1) e A, B, E (X1). A avaliação dos valores de energia livre de solvatação revelaram que o diclorometano é o solvente mais apropriado para solubilizar os três alcaloides. X1 exibiu menores valores de energia em todos os solventes testados. Tais valores podem estar relacionados a presença do grupo metoxila na estrutura que podem estabelecer ligações de hidrogênio e favorecer ligeiramente a solubilidade da molécula. Os valores negativos de energia obtidos para tais alcaloides em meio aquoso implicam no favorecimento da solubilidade neste meio, contribuindo para a efetividade de suas atividades biológicas. Por fim, os valores de energia de ligação obtidas pelas interações dos alcaloides A1, R1 e X1 com o sítio ativo das enzimas TOPO-I e TOPO-II, revelaram que tais alcaloides apresentaram melhores interações com o sítio ativo da TOPO-I (-10,1, -9,8 e -10,6 kcal/mol, respectivamente) do que com o sítio ativo da TOPO-II (-9,7, -9,5 e -9,7 kcal/mol, respectivamente), com ênfase para as interações X1-TOPO-I (Figura 2) e X1-TOPO-II (Figura 3), que exibiram melhores energias de docagem.

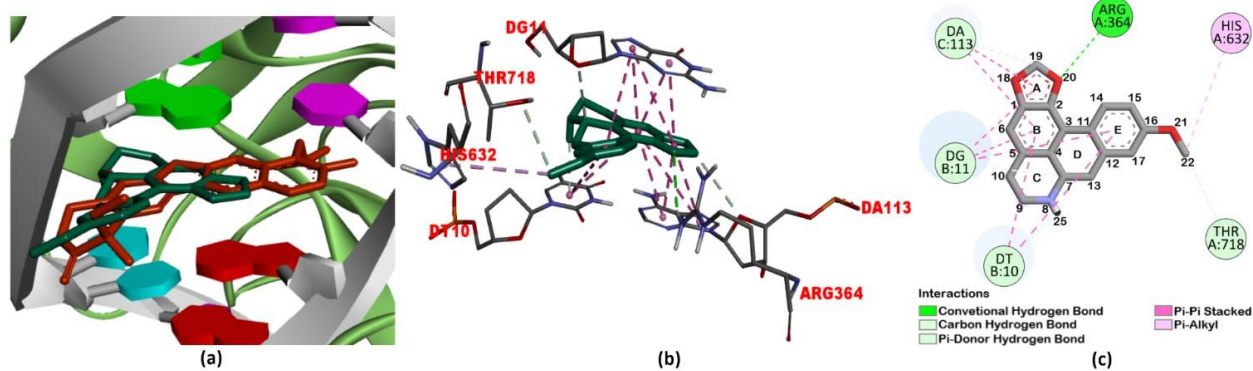


Figura 1 - Sobreposição da camptotecina (vermelho) com o alcaloide X1 (verde escuro) (a), interação do alcaloide X1 3D (b) e 2D (c) com o sítio ativo da TOPO-I.

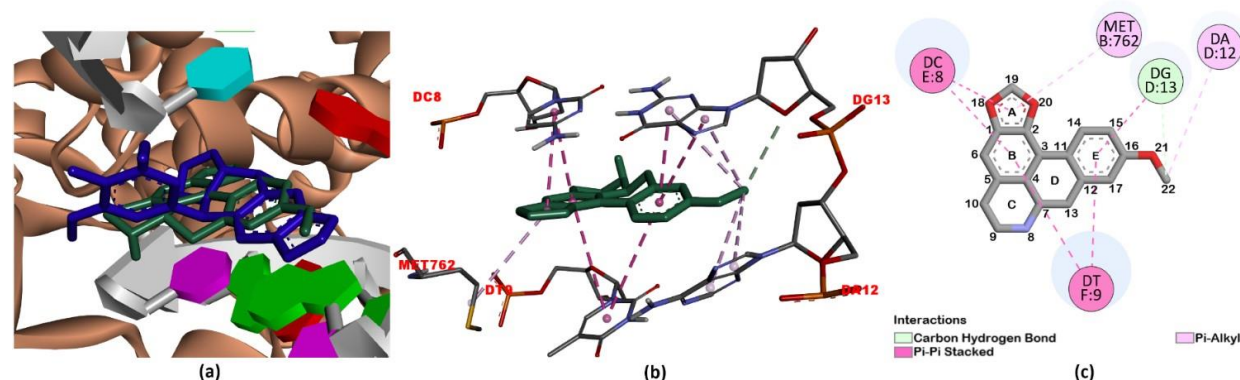


Figura 2 - Sobreposição do etoposídeo (azul escuro) com o alcaloide X1 (verde escuro) (a), interação do alcaloide X1 3D (b) e 2D (c) com o sítio ativo da TOPO-II.



5. CONCLUSÕES

Os baixos valores das lacunas energéticas entre os orbitais HOMO e LUMO, assim como da dureza, indicaram que as três moléculas possuem alta reatividade, o que sugere um potencial farmacológico. As otimizações em variados ambientes de solvatação demonstraram que o meio na qual tais moléculas foram submetidas afetou os parâmetros das lacunas energéticas entre os orbitais HOMO-LUMO, ionização, afinidade eletrônica e a reatividade global de tais moléculas, sendo R1 ligeiramente mais reativo. A avaliação do MEP, ALIE e índices de Fukui possibilitou a identificação dos locais mais vulneráveis a ataques nucleofílicos, eletrofílicos e de radicais livres, situados nos anéis A, B, D, E para A1, C, D, E para R1 e A, B, E para X1. Os cálculos da energia livre de solvatação apresentaram valores negativos para todos os solventes avaliados, sugerindo que as três estruturas são solúveis nesses solventes com destaque para o diclorometano. As simulações de docking molecular com as enzimas TOPO-I e TOPO-II sugeriram que tais alcaloides são mais propensos a inibir a enzima TOPO-I, sobretudo para o alcaloide X1, que exibiu uma menor energia de ligação (-10,6 kcal/mol).

REFERÊNCIAS

- BRANCHES, A. D. S. et al. Theoretical and experimental study by DFT, molecular docking calculations and cytotoxicity assay of 7,7-dimethylaporphine alkaloids type isolated from *Guatteria friesiana* (Annonaceae). **Journal of Molecular Structure**, v. 1177, p. 347–362, 2019.
- CHRENCIK, J. E. et al. Mechanisms of Camptothecin Resistance by Human Topoisomerase I Mutations. **Journal of Molecular Biology**, v. 339, n. 4, p. 773–784, 2004.
- COSTA, R. A. et al. Experimental and theoretical study on spectral features, reactivity, solvation, topoisomerase I inhibition and in vitro cytotoxicity in human HepG2 cells of guadiscine and guadiscidine aporphine alkaloids. **Journal of Molecular Structure**, v. 1229, p. 129844, 2021.
- FRISCH, M. J. gaussian09. <http://www.gaussian.com/>, 2009.
- LIU, Y. et al. Structural and Mechanistic Bases of the Anticancer Activity of Natural Aporphinoid Alkaloids. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 13, n. 17, p. 2116–2126, 2013.
- LU, T.; CHEN, F. Multiwfn: a multifunctional wavefunction analyzer. **Journal of Computational Chemistry**, v. 33, n. 5, p. 580–592, 2012.
- MARENICH, A. V.; CRAMER, C. J.; TRUHLAR, D. G. Universal Solvation Model Based on Solute Electron Density and on a Continuum Model of the Solvent Defined by the Bulk Dielectric Constant and Atomic Surface Tensions. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 113, n. 18, p. 6378–6396, 2009.
- MENEZES, L. et al. Cytotoxic Alkaloids from the Stem of *Xylopia laevigata*. **Molecules**, v. 21, n. 7, p. 890, 2016.
- SANTOS, L. S. et al. Xylopine Induces Oxidative Stress and Causes G2/M Phase Arrest, Triggering Caspase-Mediated Apoptosis by p53-Independent Pathway in HCT116 Cells. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2017, p. 1–13, 2017.
- TROTT, O.; OLSON, A. J. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. **Journal of computational chemistry**, v. 31, n. 2, p. 455–461, 2010.
- WANG, Y.-R. et al. Producing irreversible topoisomerase II-mediated DNA breaks by site-specific Pt(II)-methionine coordination chemistry. **Nucleic Acids Research**, v. 45, n. 18, p. 10920–10920, 2017.

AGRADECIMENTOS

Ao Programa Institucional de Bolsas e Iniciação Científica (PIBIC), Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Instituto de Ciências Exatas (ICE), Departamento de Química (DQ), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM) e Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação (PROPESP).