



## DETERMINAÇÃO DA DINÂMICA MOLECULAR DA INTERAÇÃO DA TRIPSINA COM A NARINGENINA: UM ESTUDO CINÉTICO E TERMODINÂMICO

Hauster M. C. de Paula<sup>1\*</sup>, Ygor R. Guimarães<sup>1</sup>, Francielle O. Chagas<sup>3</sup>, Ana C. S. Pires<sup>2</sup>, Luis H. M. da Silva<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Química, Viçosa, MG, Brasil, 36570-900.

<sup>2</sup> Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Viçosa, MG, Brasil, 36570-900.

<sup>3</sup> Instituto Federal do Amazonas, Departamento de Formação geral, Tefé, AM, Brasil, 69552-555.

\*e-mail: hauster.campos@gmail.com

Naringenina (NG) é um flavonóide que apresenta atividade antioxidante, anti-inflamatória, antibacteriana, antiviral e antitumoral<sup>1,2</sup>. No entanto, essas moléculas possuem baixa solubilidade e biodisponibilidade. Assim, uma estratégia para otimizar as funções desses compostos é a formação de complexos com proteínas. Nesse trabalho, estudou-se a cinética e a termodinâmica da interação da NG com a tripsina (TPS), em pH 7,4, pela técnica de ressonância plasmônica de superfície. Soluções de NG (2 – 7 µM), fluíram sob um sensor chip (CM5), com a TPS immobilizada resultando em sensograma em diferentes temperaturas (12°C a 28°C). Obteve-se as constantes cinéticas de  $k_a$  e  $k_d$ , através de um ajuste em um modelo de pseudo-primeira ordem e primeira ordem, respectivamente. Obtém-se informações do mecanismo da formação do complexo pela curva de Arrhenius ( $\ln k$  vs.  $1/T$ ), determinando os valores de  $E_a^\ddagger$ , necessária para a formação do complexo ativado  $[TPS - NG]^\ddagger$ , pela associação das moléculas livres ou pela dissociação dos complexos termodinamicamente estáveis  $[TPS - NG]^\circ$ , além dos parâmetros  $\Delta G_a^\ddagger$ ,  $\Delta H_a^\ddagger$  e  $T\Delta S_a^\ddagger$ , conforme mostra a tabela 1, onde  $x = a$  ou  $d$ . A curva de Arrhenius, apresentou comportamento

Tabela 1. Parâmetros termodinâmicos para formação do complexo de transição NG-TPS.

T	$10^4 M^{-1}s^{-1}$	Fase de associação (a)			Fase de dissociação (d)		
		$k_a$	$\Delta H^\ddagger$	$\Delta S^\ddagger$	$k_d$	$\Delta H^\ddagger$	$\Delta S^\ddagger$
12	1,71	49,96	46,62	3,34	0,41	22,58	71,84
16	2,27	34,78	46,63	-11,85	0,466	15,77	72,57
20	2,48	-6,17	47,09	-53,26	0,501	4,38	73,44
24	2,1	-70,81	48,18	-118,99	0,499	-11,24	74,48
25	1,86	-90,44	48,65	-139,09	0,494	-15,76	74,77
28	1,15	-157,22	50,37	-207,59	0,453	-30,73	75,76

polinomial, em ambos processos, indicando que a formação do  $[TS - NG]^\ddagger$  ocorre em múltiplas etapas. Valores de  $\Delta G_a^\ddagger$  e  $\Delta G_d^\ddagger$  permaneceu constante com o aumento da temperatura, no entanto  $\Delta H_a^\ddagger$  e  $\Delta H_d^\ddagger$ , além dos valores de  $T\Delta S_a^\ddagger$  e  $T\Delta S_d^\ddagger$  diminuíram gradualmente, indicando que houve uma compensação iso-cinética para a formação do  $[TPS - NG]^\ddagger$  a partir da associação

das moléculas livres ou da dissociação do  $[TPS - NG]^\circ$ . Pela relação  $K_b = k_a/k_d$  e da equação  $\Delta G^\circ = -RT \ln K_b$ , equação fundamental de Gibbs e aproximação de Van't Hoff, obtém-se os valores de  $\Delta G^\circ$ ,  $\Delta H^\circ$  e  $\Delta S^\circ$  para a formação do  $[TPS - NG]^\circ$ . Os valores de  $\Delta G_{298K}^\circ = -26,12 \text{ kJ mol}^{-1}$  mostra que no equilíbrio termodinâmico a formação do  $[TPS - NG]^\circ$  é mais favorável energeticamente e que o processo é entalpicamente dirigido,  $\Delta H_{298K}^\circ = -74,85 \text{ kJ mol}^{-1}$ . Os  $[TPS - NG]^\ddagger$  são formados por processos de compensação isocinético. Já os  $[TPS - NG]^\circ$  são formados por processos de compensação entalpia-entropia e as ligações de hidrogênio e forças de van der walls são mais pronunciadas para a estabilização dos complexos a  $T > 24^\circ\text{C}$ . As análises cinética e termodinâmica das interações entre NG e TPS podem ajudar a elucidar o mecanismo molecular de formação de complexos entre proteínas e flavonoides, o que seria útil para projetar moléculas terapêuticas.

**Agradecimentos:** CNPq, CAPES, FAPEMIG, FAPEAM e FINEP.

[1] Y. Z. Li, et al. Naringenin enhances the efficacy of ferroptosis inducers by attenuating aerobic glycolysis by activating the AMPK-PGC1α signalling axis in liver cancer, *Helyon*, 10 (2024) e32288.

[2] N. Mehranfarid, et al. Protective potential of naringenin and its nanoformulations in redox mechanisms of injury and disease, *Helyon*, 9 (2023) e22820.