



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

Hauster M. C. de Paula^{1*}, Ygor R. Guimarães¹, Francielle O. Chagas³, Ana C. S. Pires², Luis H. M. da Silva¹.

¹ Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Química, Viçosa, MG, Brasil, 36570-900.

² Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Viçosa, MG, Brasil, 36570-900.

³ 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^{1,2}. 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 μ M), fluíram sob um sensor chip (CM5), com a TPS imobilizada resultando em sensorgrama 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. Obtêm-se informações do mecanismo da formação do complexo pela curva de Arrhenius ($\ln k_x$ vs. $1/T$), determinando os valores de E_x^\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 ΔG_x^\ddagger , ΔH_x^\ddagger e $T\Delta S_x^\ddagger$, 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	Fase de associação (a)				Fase de dissociação (d)			
	k_a	ΔH°	ΔG°	$T\Delta S^\circ$	k_d	ΔH°	ΔG°	$T\Delta S^\circ$
°C	$10^4 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$	kJ mol ⁻¹	kJ mol ⁻¹	kJ mol ⁻¹	s ⁻¹	kJ mol ⁻¹	kJ mol ⁻¹	kJ mol ⁻¹
12	1,71	49,96	46,62	3,34	0,41	22,58	71,84	-49,27
16	2,27	34,78	46,63	-11,85	0,466	15,77	72,57	-56,8
20	2,48	-6,17	47,09	-53,26	0,501	4,38	73,44	-69,06
24	2,1	-70,81	48,18	-118,99	0,499	-11,24	74,48	-85,72
25	1,86	-90,44	48,65	-139,09	0,494	-15,76	74,77	-90,53
28	1,15	-157,22	50,37	-207,59	0,453	-30,73	75,76	-106,49

polinomial, em ambos processos, indicando que a formação do $[TS - NG]^\ddagger$ ocorre em múltiplas etapas. Valores de ΔG_a^\ddagger e ΔG_d^\ddagger permaneceu constante com o aumento da temperatura, no entanto ΔH_a^\ddagger e ΔH_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, obtêm-se os valores de ΔG° , ΔH° e ΔS° 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 Waals 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-PGC1 α signalling axis in liver cancer, *Helyon*, 10 (2024) e32288.

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