ÁREA DE SUBMISSÃO: PRODUTOS NATURAIS E QUÍMICA MEDICINAL –
PNQM11

AVALIAÇÃO DO *DOCKING MOLECULAR* DE DERIVADOS TIOFÊNICOS COMO INIBIDORES DO RECEPTOR TGF- β (ALK-5) COMO AGENTES ANTICÂNCER

A. L. C. PEREIRA¹, L. SCOTTI¹, M. T. SCOTTI¹ e F. J. B. MENDONÇA-JUNIOR^{1,2}

¹ Universidade Federal de Paraíba, Centro de Biotecnologia, Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos;

² Universidade Estadual da Paraíba, Departamento de Ciências Biológicas, Laboratório de Síntese e Vetorização de Moléculas;

E-mail para contato: analigia@lftf.ufpb.br

RESUMO – *O câncer é uma das doenças que mais faz vítimas por ano. Diante desse quadro se faz necessário a busca por novas substância com potencial anticâncer. Nesse contexto, esse trabalho visou através do uso do docking molecular a predição da interação de derivados tiofênicos e o receptor ALK5. Para docking, o receptor TGF- β 1 (ALK5) código PDB id: 1RW8 foi utilizado, e foram utilizados derivados tiofeno-piperazínicos (TCD 01-03) e tiofenos-acrilamidas (TPA 01-03) como ligantes. O docking molecular foi realizado pelo programa Molegro Virtual Docking 6.0, no qual a proteína foi otimizada e os compostos foram submetidos ao acoplamento molecular após otimização da geometria. Os resultados indicam que todos os compostos apresentaram energia de ligação negativa, indicando possibilidade de interações estáveis. Quanto ao mapa do ligante 2D, todos compostos da série TCD tiveram interação com o resíduo-chave Ser-280. Além disso, os derivados TCD-01, TPA-01 e TPA-03 interagem, por meio de interação estérica e ligação de hidrogênio, com os resíduos Asn-338, Asp-351 e Tyr-282, respectivamente, sendo estes resíduos indicativos de estabilidade e especificidade. Os melhores ligantes serão sintetizados e avaliados in vitro frente a linhagens de câncer.*

Palavras chaves: Câncer. Químioinformática. proteína ALK5. tiofeno-piperazinas. tiofenos-acrilamidas.

ABSTRACT – *Cancer is one of the diseases that makes the most number of victims every year. Due this situation it is necessary to search for new substances with anticancer potential. In this context, this work aimed to through the use of molecular docking to predict the interaction of thiophene derivatives and the ALK5 receptor. For docking, the TGF- β 1 receptor (ALK5) PDB code id: 1RW8 was used, and thiophene-piperazine derivatives (TCD 01-03) and thiophenes-acrylamides (TPA 01-03) were used as linkers. Molecular docking was performed by the Molegro Virtual Docking 6.0 program, in which the protein was optimized and the compounds were submitted to molecular coupling after geometry optimization. The results indicate that all compounds showed negative binding energy, indicating the possibility of stable interactions. In the 2D ligand map, all compounds of the TCD*

series had interaction with the key residue Ser-280. In addition, the TCD-01, TPA-01 and TPA-03 derivatives interacted, by means of steric interaction and hydrogen bonding, with residues Asn-338, Asp-351 and Tyr-282, respectively, being these residues indicative of stability and specificity. The best ligands will be synthesized and evaluated in vitro against cancer strains.

Keywords: Cancer. Chemoinformatics. ALK5. diazol carbonitrile and acrylamides.

1. INTRODUÇÃO

Segundo as estatísticas levantadas pelo Instituto Nacional do Câncer (INCA), cerca de um quinto da população mundial está propensa a apresentar algum tipo de câncer (INCA 2016). Dentre as diversas causas do câncer, diversas proteínas regulatórias da proliferação celular e da migração, como as TGF- β podem estar relacionadas (GREY e VALE, 2012).

Com base nesse conhecimento, sabe-se que micromoléculas inibidoras de receptores TGF- β I do tipo ALK5 podem ter grande eficácia e especificidade em intervenções terapêuticas (HALDER, BEAUCHAMP e. DATTA, 2005).

Por sua vez a utilização de análogos sintéticos com ampla atividade biológica, como os núcleos tiofênicos (NAIR e ABRAHAM, 1993); e a utilização de ferramentas da quimionformática preditiva, tais como o *docking molecular*, podem ser de grande valia na busca de novos compostos com potencial ação antineoplásica (MENG et al., 2011).

Diante dessas considerações, o objetivo desse trabalho consistiu na realização do *docking molecular* de um grupo de derivados tiofênicos sintéticos, para se avaliar os melhores ligantes do receptor ALK-5, de modo a se buscar o melhor conjunto de ligantes (*hits*) com capacidade preditiva para inibir o ALK-5.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Para o estudo foram utilizados 6 derivados tiofênicos que poderão ser sintetizados pelo Laboratório de Síntese e Vetorização de Moléculas (LSVM) da Universidade Estadual da Paraíba. Os representados pela estrutura (a), código TCD são tiofeno-piperazínicos, e os representados pela letra (b) são tiofenos-acrilamidas.

Figura 1 – Derivados tiofênicos das séries tiofeno-piperazínicos (a) e tiofenos-acrilamidas (b).

A

proteína utilizada foi à estrutura cristalina do receptor cinase TGF- β I (ALK-5) com o sítio inibidor da ATP, obtida pelo PDB (Banco de Dados de Proteínas) com o código id: 1RW8.

Os compostos foram desenhados e as geometrias otimizadas, com auxílio do programa Hiperchem 8.0, utilizando-se campo de força de mecânica molecular (MMFF). Uma segunda otimização da geometria foi feita, adotando-se o método semi-empírico AM1 (*Austin Model I*).

Para o *docking molecular* utilizou-se o programa Molegro Virtual Docking 6.0, onde os compostos foram submetidos ao acoplamento molecular. A proteína 1RW8 foi otimizada com a retirada de água e cofatores. Realizou-se a ancoragem como os mesmos parâmetros padrão do software utilizando-se um GRID de 15Å no raio e 0,30Å de resolução ao sítio de ligação da enzima com as estruturas. Após isso, avaliou-se o algoritmo Moldock score, para prever a melhor interação entre ligante e receptor; evidenciando-se o mapa do ligante 2D.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com o apresentado na tabela 1, todas as moléculas apresentaram valores negativos de Moldock (energia de ligação) variando entre -78.7345 e -137.486 Kcal/mol, sendo este um indicativo de que todas as moléculas possuem boa estabilidade quando ligados ao receptor. Para os tiofeno-piperazínicos, observa-se que TCD-03 (-88.9043 Kcal/mol) apresenta menor energia de ligação dessa série, enquanto que TCD-2 apresenta maior valor (-78.7345 Kcal/mol). Com relação aos derivados tiofenos-acrilamidas, a maior energia de ligação foi do TPA-01 (-118.604 Kcal/mol) e a menor energia foi do TPA-03 (-137.486 Kcal/mol), que também apresentou ligação de hidrogênio de -2.5 Kcal/mol sendo, portanto, o mais estável.

Tabela 1 – valores energéticos de interação obtidas no *docking molecular*

Composto.	E _{Moldock}	H-bond	E-intra (electl.)
TCD-01	-82.565	0	0
TCD-02	-78.7345	0	0
TCD-03	-88.9043	0	0
TPA-01	-118.604	0	0
TPA-02	-121.658	-0.794251	0
TPA-03	-137.486	-2.5	0

No que tange aos resultados do mapa do ligante 2D, para os derivados tiofeno-piperazínicos, observou-se, que todos esses derivados encontram-se interagindo com o resíduo Ser-280, que é um resíduo-chave para a seletividade do receptor ALK5 (KIM et al., 2007).

Ainda, em relação à molécula TCD-01, nota-se que a nitrila (CN) na posição 5 do anel piperazina interage com o resíduo Asn-338, por interação estérica, sendo um forte contribuição para a estabilização a conformação inativa da ALK5 (KIM et al., 2007). Já para os derivados TCD-02 e TCD-03 a nitrila interage com o resíduo Leu-278.

Para os derivados tiofênicos-acrilamidas, verificou-se que a carbonila do composto TPA-01, realiza uma ligação de hidrogênio com o resíduo Asp-351, sendo considerada uma interação chave, uma vez que, esse resíduo geralmente está localizado perto da região da conformação inativada da enzima (PATEL et al., 2015). Analisando o derivado TPA-02, constatou-se interação do tipo dipolo-induzido da nitrila dessa molécula com o

resíduo Lys-337, e de forma semelhante interação do anel hidrofóbico ciclohexan[b]tiofe-2-nil com o resíduo Leu-278. Para o composto TPA-03, a nitrila dessa molécula realiza interação estérica com o resíduo Tyr-282 e ligação de hidrogênio com o resíduo His-283, podendo esta última, ser de grande importância, pois a posição desse resíduo constitui-se como o principal local de ligação do composto com o receptor (PATEL et al., 2015).

4. CONCLUSÃO

Todos os compostos das duas séries apresentaram energia de ligação com valores negativos, o que indicam a possibilidade de interação com a proteína. O composto com maior destaque foi o tiofeno-piperazínicos de código TCD-03, e para série de tiofenos-acrilamidas. O de código TPA-03. Foram observados as interações dos ligantes com os principais resíduos de aminoácidos do receptor, e observou-se que todos derivados tiofeno-piperazínicos interagem com o resíduo-chave Ser-280, indicando que todos podem ser seletivos para se ligar ao receptor ALK-5. Os compostos TPA-01 e TPA-03 da série tiofenos-acrilamidas também apresentaram valores significativos de interação e interação com resíduos críticos do receptor, indicando poder ser bons ligantes. Com perspectiva futura, esses melhores ligantes serão sintetizados e avaliados in vitro contra cepas tumorais que expressam o receptor cinase TGF- β I (ALK-5) para avaliação do seus potenciais efeitos inibidores.

5. REFERÊNCIAS

GRAY, P.C., VALE W. Cripto/GRP78 modulation of the TGF- β pathway in development and oncogenesis. **FEBS letters.**, v.586, n. 14, p.1836-1845, 2012;

HALDER, S. K., BEAUCHAMP, R. D., DATTA, P. K. A specific inhibitor of TGF- β receptor kinase, SB-431542, as a potent antitumor agent for human cancers. **Neoplasia** v.7, n. 5, p. 509-521, 2005.

KIM, D.K., et al. Synthesis and biological evaluation of 4 (5)-(6-alkylpyridin-2-yl) imidazoles as transforming growth factor- β type 1 receptor kinase inhibitors. **J. Med. Chem.** v. 50, n. 13, p. 3143-7, 2007.

MENG, X.Y., ZHANG, H.X., MEZEI, M., CUI, M. Molecular docking: a powerful approach for structure-based drug discovery. **Curr Comput-aided Drug Des.** v. 7, n. 2, p.146-57, 2011.

NAIR, M.G., ABRAHAM, A. thiophenes substituents antitumor antifolates., **US patente**, 1993.

PATEL, H. M et al. Design, synthesis and evaluation of small molecule imidazo[2,1-b] [1,3,4]thiadiazoles as inhibitors of transforming growth factor-b type-I receptor kinase (ALK5). **Eur. J. Med. Chem.**, v. 93, p. 599-613, 2015.