



SÍNTESE E DOCKING MOLECULAR DE *O*-AROIL LACTONAS DERIVADAS DE FENÓIS NATURAIS COM POTENCIAL INIBIÇÃO DE BIOFILMES BACTERIANOS



Guilherme de O. Ferraz¹ (PG), Nicolas Zuim^{1*} (G), Ulisses Alves Pereira² (PQ), Charles Martins Aguilar² (PQ), Ivan Pires de Oliveira² (PQ), Patrícia F. Pinheiro¹ (PQ)

¹ Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Química, Viçosa, Minas Gerais, Brasil

² Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Agrárias, Montes Claros, Minas Gerais, Brasil

*e-mail: nicolas.zuim@ufv.br

RESUMO

Foram sintetizadas cinco *O*-aroil lactonas inéditas derivadas de ácidos fenoxiacéticos obtidos a partir de fenóis naturais (carvacrol, timol, guaiacol, eugenol e fenol) e da 3-hidroxi- γ -butirolactona com potencial atividade antibiofilme. As estruturas foram caracterizadas por técnicas espectroscópicas e avaliadas por docking molecular frente à proteína associada ao quorum sensing bacteriano. Os compostos mostraram interações favoráveis, superiores à do ligante de referência, sugerindo possível aplicação no controle de biofilmes bacterianos.

Palavras-chave: resistência bacteriana, antibiofilme, γ -lactonas

Introdução

A definição de biofilme bacteriano corresponde a uma comunidade viva de bactérias organizada em uma estrutura complexa e dinâmica, aderida a uma superfície. Essa população bacteriana encontra-se envolta por uma matriz composta por exopolissacarídeos, proteínas e DNA, todos produzidos e liberados pelas próprias bactérias (1,2). Os biofilmes microbianos estão associados a infecções de caráter persistente, devido à alta resistência a antibióticos (1). Fenóis naturais, como guaiacol, eugenol, carvacrol e timol, são metabólitos vegetais com propriedades antimicrobianas e que inibem a formação de biofilmes. (3,4). O mecanismo de formação de biofilme em muitas bactérias está associado ao sistema de quorum sensing (QS), uma via de sinalização química que regula processos coordenados em populações bacterianas (5). Nas bactérias gram-negativas, os sistemas QS mais bem caracterizados são mediados por *N*-acilhomoserina lactonas (AHLs), como a *N*-butanoil HL (BHL) (Figura 1). Além das AHLs, existe também a substância natural chamada *p*-cumaroil-HSL (*p*-C-HSL) (Figura 1) (5).

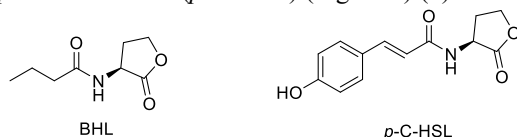


Figura 1: *N*-butanoil HL (BHL) e *p*-cumaroil-HSL (*p*-C-HSL)

Assim, o objetivo deste trabalho é sintetizar compostos inéditos análogos à *p*-cumaroil-HSL a partir da α -hidroxi- γ -butirolactona e de fenóis naturais e avaliá-los quanto à sua capacidade de inibir a formação de biofilme bacteriano por meio de docking molecular, para entender como ocorre o reconhecimento molecular, as interações e os resíduos da proteína que são essenciais para a ligação, no biofilme bacteriano.

Metodologia

Síntese das *O*-aroil homoserina lactonas:

Os ácidos fenoxiacéticos utilizados foram previamente sintetizados conforme Thammyres A. A. *et al* pela reação do fenol natural com ácido cloroacético em meio básico (6). De posse dessas substâncias, a um tubo selado foram adicionados: 2 mL de diclorometano, 1,0 mmol de ácido fenoxiacético previamente preparado, 0,1 mmol de 4-dimetilaminopiridina (DMAP), 1,0 mmol de EDC e 1,0 mmol de 3-hidroxi- γ -butirolactona. A reação foi mantida em agitação em temperatura ambiente por 3h. A purificação foi feita através de extrações líquido-líquido (10x10 mL) de água destilada gelada, seguida de duas extrações com solução ácida (pH = 1). A fase orgânica foi concentrada para obter os ésteres puros (Figura 2).

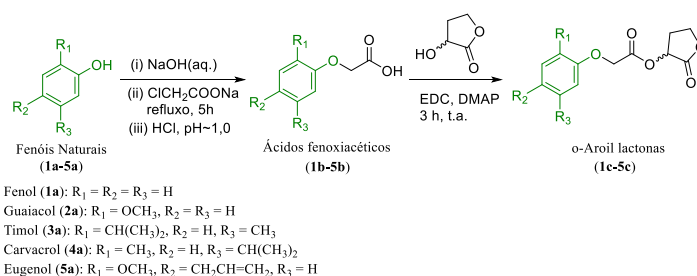


Figura 2: Rota sintética para *O*-aroil homoserina lactonas

Docking molecular:

As poses de docagem molecular foram calculadas a partir da estrutura cristalográfica do banco de dados *Protein Data Bank* (2uv0), resolvida por difração de raio-x com resolução de 1.80 Å, contendo quatro cadeias, sendo utilizada apenas uma para a realização dos cálculos. O ligante *N*-(3-oxododecanoyl)-l-homoserina lactona 3 (OdDHL ou 3-oxo-C12-HSL), uma AHL, foi utilizado como composto referência (7). Os ligantes foram preparados e docados seguindo estudo de Basmah A. *et al*. (8). Utilizou-se o webserver

SwissDock, via AutoDock Vina [9,10], com centro da caixa em coordenadas x, y, z, em 22, 16, 80 Å, respectivamente. A caixa cúbica utilizada teve como aresta 18 Å. Resultados foram analisados com os programas PyMOL, VMD e PoseView (11).

Resultados e Discussão

Síntese das O-aril homoserina lactonas:

Todos os cinco compostos propostos derivados de fenóis naturais foram sintetizados, com os seguintes rendimentos: **1c** (26%), **2c** (38%), **3c** (62%), **4c** (71%) e **5c** (18%). Estes foram devidamente caracterizados por infravermelho (FTIR), espectro de massas (EM) e ressonância magnética nuclear (RMN) de ¹H e ¹³C. A Figura 3 apresenta o RMN de ¹³C para o derivado do carvacrol **4c** em que é possível observar os sinais referentes aos carbonos dessa molécula.

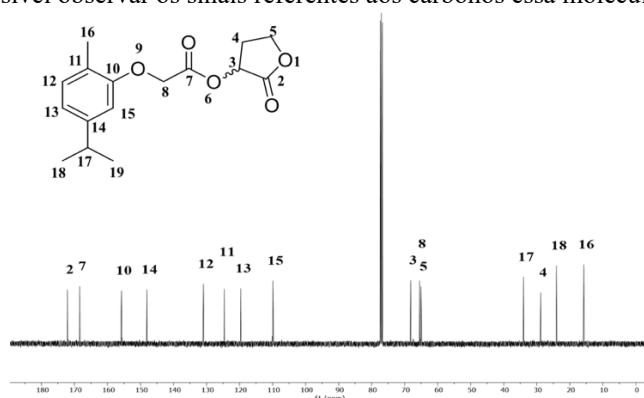


Figura 3: Espectro de RMN de ¹³C de **4c** em CDCl₃.

Docking molecular:

A estrutura da proteína é mostrada na Figura 4, destacando o sítio de ligação interagindo com o ligante 3-oxo-C12-HSL, bem como da interação com o mesmo ligante através do cálculo de docagem (*redocking*).

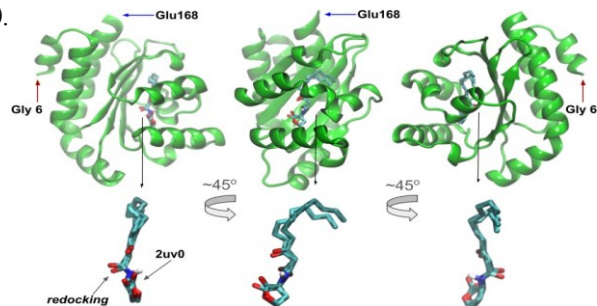


Figura 4: Visualização do sítio de ligação e sobreposição das coordenadas dos átomos dos ligantes na estrutura cristalográfica (2uv0) e obtida pelo método AutoDock Vina (*redocking*).

Tabela 1: Energias de Interação proteína-ligante comparativamente ao composto lactona referência da estrutura cristalográfica 3-oxo-C12-HSL.

	Ligante referência	R	S
Interação Proteína-Ligante			
Redocking	-6.357 kcal/mol	—	—
Conformação 1	—	-9.423 kcal/mol	-9.303 kcal/mol
Conformação 2	—	-8.754 kcal/mol	-8.610 kcal/mol
Conformação 3	—	-7.545 kcal/mol	-7.516 kcal/mol

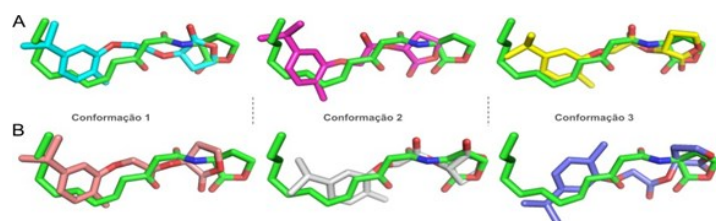


Figura 5: Sobreposição entre os ligantes estudados e o ligante de referência (verde) considerando as conformações descritas na Tabela 1. (A) Isômero R e (B) Isômero S do composto **4c**.

A Tabela 1 mostra os cálculos de afinidade proteína-ligante para os isômeros R e S do composto **4c** e a Figura 5 mostra a sobreposição entre o ligante de referência e estes isômeros. Pode-se observar boa sobreposição tridimensional entre as estruturas, que apresentam, inclusive, tamanho muito semelhante.

Conclusões

A rota sintética escolhida para a síntese dos compostos propostos foi eficiente, os compostos foram obtidos com rendimentos de 18 a 71%. Pelos dados obtidos, não houve distinção entre as interações entre os isômeros R e S do composto **4c** e o sítio de ligação da proteína, sendo ambos mais favoráveis de estabilização no sítio do que o ligante de referência da estrutura cristalográfica. As interações com resíduos específicos do sítio de ligação da proteína apresentaram um padrão que estabilizam o composto de referência, da estrutura cristalográfica, bem como o conjunto das três melhores poses obtidas pela docagem molecular.

Agradecimentos



Referências

- S. Sharma; J. Mohler; S.D. Mahajan; S.A. Schwartz; L. Bruggemann; R. Aalinkeel, *Microorganisms* **2023**, 11, 1614.
- B.S. Saharan; N. Beniwal; J.S. Duhan, *The Microbe* **2024**, 5, 100194.
- N. Saini; A. Anmol; S. Kumar; A. W. Wani; M. Bakshi; Z. Dhiman, *Physiol. Mol. Plant Pathol.* **2024**, 133, 102383.
- D. J. Walsh; T. Livinghouse; D. M. Goeres; M. Mettler; P. S. Stewart, *Front. Chem.* **2019**, 7, 653.
- C. E. McInnis; H. E. Blackwell, *ChemBioChem* **2014**, 15, 87–93.
- T.A. Alves; P.F. Pinheiro; M.M. Praça-Fontes; L.F. Andrade-Vieira; M.P. Lourenço; M.R. Lage; T.A. Alves; F.A. Cruz; J.W.M. Carneiro; A. Ferreira; T.C.B. Soares, *An. Acad. Bras. Cienc.* **2021**, 93, e20201207.
- M. J. Bottomley; E. Muraglia; R. Bazzo; A. Carfi, *J. Biol. Chem.* **2007**, 282 (18), 13592.
- B. Almohaywi; A. Taunk; D. S. Wenholz; S. Nizalapur; N. N. Biswas; K. K. K. Ho; S. A. Rice; G. Iskander; D. S. Black; R. Griffith; N. Kumar, *Molecules* **2018**, 23 (5), 1106.
- M. Bugnon; U. F. Rohrig; M. Goullieux; M. A. S. Perez; A. Daina; O. Michielin; V. Zoete, *Nucleic Acids Res.* **2024**, 52 (W1), W324.
- J. Eberhardt; D. Santos-Martins; A. F. Tillack; S. Forli, *J. Chem. Inf. Model.* **2021**, 61 (8), 1.
- K. Schöning-Stierand, K. Diedrich, C. Ehrt, F. Flachsenberg, J. Graef, J. Sieg, P. Penner, M. Poppinga, A. Ungethüm, M. Rarey, *Nucleic Acids Res.*, **2022**, 50 (W1), W611.