



ESTUDO *IN SILICO* DAS INTERAÇÕES ENTRE ÔMEGA-3 DERIVADOS DE MICROALGAS MARINHAS E A CICLOOXIGENASE-2 (COX-2)

Nicholas A. B. Bento^{a,*}; Walter C. C. Bigui^b; Kadja L. C. Monteiro^c; Débora P. Araújo^c;
Paulo S. S. Porto^{a,d}

^a Programa de Pós-graduação em Energia, Universidade Federal do Espírito Santo.

^b Programa de Pós-graduação em Química, Universidade Federal do Espírito Santo.

^c Departamento de Ciências Naturais, Universidade Federal do Espírito Santo.

^d Departamento de Engenharia e Tecnologia, Universidade Federal do Espírito Santo.

*e-mail: nicholas.berger@hotmail.com.

Palavras-Chave: *Docking* molecular, Compostos bioativos, Atividade anti-inflamatória.

Introdução

As microalgas marinhas são organismos fotossintetizantes unicelulares que apresentam elevada diversidade taxonômica e metabólica, sendo reconhecidas como uma das mais promissoras fontes naturais de compostos bioativos. Sua complexidade química permite a biossíntese de diferentes classes de metabólitos, incluindo lipídios, proteínas, carboidratos, pigmentos, carotenoides, polissacarídeos, compostos fenólicos e ácidos graxos poli-insaturados (Nieri et al., 2023). Entre esses metabólitos, destacam-se os ácidos graxos poli-insaturados da família ômega-3, especialmente o ácido eicosapentaenoico (EPA) e o ácido docosahexaenoico (DHA), amplamente utilizados nas indústrias farmacêutica, alimentícia e nutracêutica, devido aos benefícios relacionados à saúde cardiovascular, neurológica e imunológica (Ren et al., 2022).

Diversos estudos demonstram que EPA e DHA exercem atividade anti-inflamatória por meio da modulação de diferentes vias bioquímicas, incluindo a produção de mediadores lipídicos especializados e a regulação da expressão de citocinas pró-inflamatórias (Calder, 2013). Remize et al. (2021) destacaram que esses compostos, quando extraídos de microalgas apresentam alto potencial nutricional e industrial, embora sua aplicação em larga escala ainda dependa de avanços relacionados à produção, segurança regulatória e escalabilidade. Além de competirem com ácido araquidônico, EPA e DHA promovem a formação de eicosanoides menos inflamatórios e formam resolvinas, protectinas e maresinas diminuindo a inflamação. Dawczynski et al. (2018) observaram que DHA proveniente de *Schizochytrium* melhorou atividade da artrite reumatoide e deslocou o perfil lipídico para pró-resolução, produzindo menos mediadores que promovem a inflamação e mais mediadores que ajudam a encerrá-la. Nesse contexto, esses compostos têm sido investigados como potenciais agentes terapêuticos no tratamento de doenças inflamatórias crônicas.



Entre os principais alvos envolvidos na resposta inflamatória destaca-se a ciclooxigenase-2 (COX-2), uma enzima induzível que catalisa a conversão do ácido araquidônico em prostaglandinas pró-inflamatórias, desempenhando papel central na mediação da dor, inflamação e febre (Khalil et al., 2024). Em razão dessa função, a COX-2 constitui um importante alvo farmacológico, sendo inibida por diversos anti-inflamatórios não esteroidais amplamente utilizados na prática clínica (Ferrer et al., 2018).

Apesar do reconhecido potencial anti-inflamatório de EPA e DHA, ainda são limitados os estudos direcionados à compreensão de suas interações moleculares com a COX-2, especialmente quando considerados como compostos obtidos a partir de microalgas marinhas (Fath et al., 2024). A investigação do modo de ligação desses ácidos graxos ao sítio catalítico da enzima pode fornecer informações relevantes acerca dos mecanismos envolvidos em sua atividade biológica (Wu et al., 2023) e contribuir para a identificação de possíveis interações responsáveis por seus efeitos anti-inflamatórios. Além disso, esse tipo de abordagem reforça o potencial das microalgas como fontes sustentáveis de compostos bioativos de interesse farmacológico.

Diante desse contexto, o presente trabalho teve como objetivo investigar, por meio de *docking* molecular, as interações entre os ácidos graxos EPA e DHA e a enzima COX-2, utilizando esses compostos como representantes dos principais ômega-3 produzidos por microalgas marinhas, afim de ampliar a compreensão de seus modos de ligação ao sítio catalítico da enzima e de seu potencial como agentes bioativos.

Material e Métodos

As estruturas dos ligantes EPA e DHA foram desenhadas utilizando o software Chem3D® e minimizadas pelo método MM2. Os estudos de *docking* molecular foram inicialmente validados por meio de um ensaio de *redocking*, utilizando a estrutura cristalográfica da ciclooxigenase-2 (COX-2) humana em complexo com o ácido mefenâmico (ID PDB 5IKR). Para a preparação da enzima e dos ligantes foi considerado um pH fisiológico igual a 7. O ácido mefenâmico cocrystalizado foi submetido ao *redocking* em seu sítio de ligação utilizando o software GOLD® e as quatro funções de pontuação disponíveis (ChemPLP, GoldScore, ChemScore e ASP). Os valores de RMSD entre as poses obtidas no *redocking* e a conformação cristalográfica das quatro funções ChemPLP, GoldScore, ChemScore e ASP foram de 0,5933, 6,5214, 0,8463 e 0,6429 Å, respectivamente, conforme calculado no GOLD®, e disponibilizado na Tabela 1. Com base no menor valor de RMSD obtido, a função de pontuação ChemPLP foi selecionada para os estudos subsequentes. Em seguida, o EPA (ácido eicosapentaenoico) e o DHA (ácido docosahexaenoico) foram submetidos ao *docking* no sítio de ligação da COX-2, e a pose mais bem classificada de cada um foi selecionada para análise.



Tabela 1 - Valores de RMSD calculados para a COX-2 nos diferentes algoritmos.

Ciclooxigenase-2 (COX-2) humana						
PDB	Ligante	Res. (Å)	Valor do RMSD (Software GOLD®)			
			ChemPLP	GOLDScore	ChemScore	ASP
5IKR	Ácido M	2.34	0,5933	6,5214	0,8463	0,6429

Cores mais próximas do verde indicam valores de RMSD mais baixos; cores mais próximas do vermelho indicam valores de RMSD elevados.

Resultados e Discussão

Os diagramas bidimensionais das interações estabelecidas entre EPA, DHA e o ligante cristalográfico com a COX-2 são apresentados na Figura 1. A análise de *docking* indicou que o EPA adota um modo de ligação biologicamente plausível no sítio ativo da COX-2. O grupo carboxilato estabeleceu interações de ligação de hidrogênio com Arg120 (2,84 Å) e Tyr355 (2,09 Å), resíduos reconhecidos como essenciais para a ancoragem de ligantes ácidos no canal da ciclooxigenase. Além disso, a cadeia hidrocarbônica foi estabilizada por extensos contatos hidrofóbicos envolvendo Val349, Leu352, Phe518, Met522, Val523, Ala527 e Leu531, contribuindo para a estabilização do ligante na cavidade de ligação hidrofóbica.

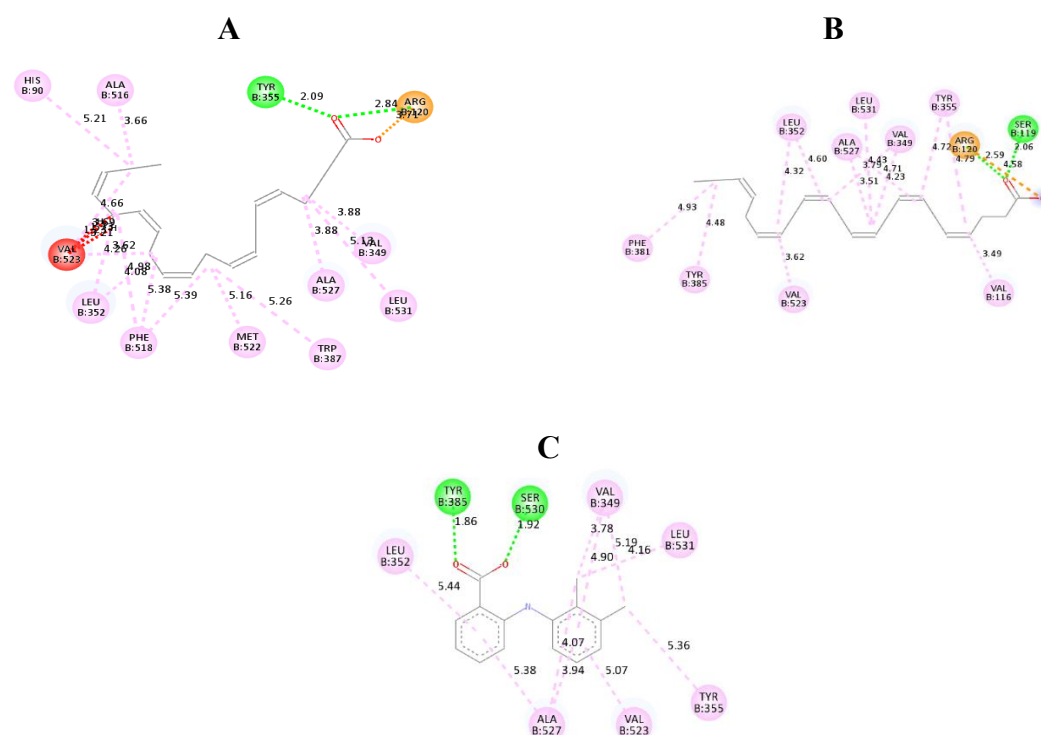


Figura 1 - Diagramas de interação em 2D dos complexos de *docking* entre a COX-2 e **A)** o ácido eicosapentaenoico (EPA), **B)** o ácido docosahexaenoico (DHA) e **C)** o ligante cocrystalizado ácido mefenâmico. As ligações de hidrogênio são representadas por linhas tracejadas verdes, as interações eletrostáticas por linhas tracejadas laranjas e as interações hidrofóbicas (alquil e π -alquil) por linhas tracejadas rosas. As distâncias entre os átomos envolvidos em ligações de hidrogênio são apresentadas em angstroms (Å).



As diferenças observadas na orientação dos ligantes são consistentes com as características estruturais distintas dessas moléculas, particularmente a maior flexibilidade conformacional do DHA, resultante de sua cadeia carbônica mais longa e de seu maior grau de insaturação. No entanto, ambos os ácidos graxos permaneceram acomodados na mesma cavidade de ligação e estabeleceram interações com resíduos que revestem o canal catalítico, corroborando a plausibilidade de seus modos de ligação previstos.

Curiosamente, apesar de ocuparem o mesmo canal catalítico que o ácido mefenâmico cristalográfico, o EPA e o DHA exibiram padrões distintos de interação polar. Enquanto o ligante cristalográfico estabeleceu ligações de hidrogênio com Ser530 e Tyr385, ambos os ácidos graxos foram ancorados principalmente pela Arg120, com o EPA interagindo adicionalmente com a Tyr355 e o DHA formando uma ligação de hidrogênio extra com a Ser119. Essas diferenças provavelmente refletem a natureza química distinta dos ligantes. O ácido mefenâmico é um fármaco anti-inflamatório não esteroide (AINE) rígido, ao passo que o EPA e o DHA são ácidos graxos poli-insaturados flexíveis que atuam como substratos endógenos da COX-2. Apesar dessas diferenças na rede de interações polares, ambos os ácidos graxos estabeleceram extensos contatos hidrofóbicos com resíduos que revestem o canal catalítico, sugerindo uma acomodação favorável no sítio ativo da enzima. Os principais parâmetros de interação observados para os três ligantes encontram-se sumarizados na Tabela 2.

Tabela 2 - Comparação das interações entre o ácido mefenâmico cristalográfico (ID PDB: 5IKR), EPA e DHA no sítio ativo da COX-2.

Parâmetro de interação	Ácido mefenâmico (5IKR)	EPA	DHA
ChemPLP score	- (ligante cristalográfico)	80.32	79.92
Ligações de hidrogênio	Ser530, Tyr385	Arg120 (2.84 Å), Tyr355 (2.09 Å)	Arg120 (2.59 Å), Ser119 (2.06 Å)*
Interação eletrostática	-	Arg120	Arg120
Contatos hidrofóbicos	Leu352, Val349, Tyr355, Val523, Ala527, Leu531	His90, Val349, Leu352, Phe518, Met522, Val523, Ala527, Leu531	Val116, Val349, Leu352, Tyr355, Phe381, Tyr385, Val523, Ala527, Leu531
Principal região de ancoragem	Canal catalítico interno (Ser530/Tyr385)	Entrada do canal catalítico (Arg120/Tyr355)	Entrada do canal catalítico (Arg120)

Conclusões

Os resultados obtidos demonstraram que EPA e DHA apresentam modos de ligação biologicamente plausíveis no sítio ativo da COX-2, ocupando o mesmo canal catalítico do ácido mefenâmico. Embora tenham apresentado padrões distintos de interação polar, ambos os compostos estabeleceram extensas interações hidrofóbicas que contribuíram para a estabilização dos complexos proteína-ligante. Dessa forma, os resultados reforçam o potencial dos ácidos graxos ômega-3 derivados de microalgas marinhas como fontes promissoras de compostos bioativos e evidenciam a aplicabilidade do *docking* molecular como ferramenta para



a investigação preliminar dos mecanismos associados à atividade anti-inflamatória. Como perspectivas futuras, espera-se extrair, identificar e quantificar EPA e DHA de diferentes espécies de microalgas marinhas e avaliar por meio de um ensaio enzimático o efeito destes compostos sobre a enzima COX-2, permitindo validar as interações previstas pelos estudos computacionais.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq, à Capes, à Fapes e a UFES.

Referências

- CALDER, P. C. Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids and Inflammatory Processes: Nutrition or Pharmacology? **Br. J. Clin. Pharmacol.** 75(3), 645–662, 2013.
- DAWCZYNSKI, C.; DITTRICH, M.; NEUMANN, T.; GOETZE, K.; WELZEL, A.; OELZNER, P.; VÖLKER, S.; SCHAIBLE, A. M.; TROISI, F.; THOMAS, L.; PACE, S.; KOEBERLE, A.; WERZ, O.; SCHLATTMANN, P.; LORKOWSKI, S.; JAHREIS, G. Docosahexaenoic Acid in the Treatment of Rheumatoid Arthritis: A Double-Blind, Placebo-Controlled, Randomized Cross-Over Study with Microalgae vs. Sunflower Oil. **Clin. Nutr.** 37(2), 494–504, 2018.
- FATH, T.; THEODOREA, C. F.; IDRUS, E.; MASHIMA, I.; SUNIARTI, D. F.; SOEKANTO, S. A. Binding Modes of the Metabolites Docosahexaenoic Acid, Eicosapentaenoic Acid, and Eicosapentaenoic Acid Ethyl Ester from *Caulerpa racemosa* as COX-2 Inhibitors Revealed via Metabolomics and Molecular Dynamics. **Inform. Med. Unlocked** 49, 101539, 2024.
- FERRER, M. D.; BUSQUETS-CORTÉS, C.; CAPÓ, X.; TEJADA, S.; TUR, J. A.; PONS, A.; SUREDA, A. Cyclooxygenase-2 Inhibitors as a Therapeutic Target in Inflammatory Diseases. **Curr. Med. Chem.** 26(18), 3225–3241, 2018.
- KHALIL, N. A.; AHMED, E. M.; THARWAT, T.; MAHMOUD, Z. NSAIDs Between Past and Present: A Long Journey Towards an Ideal COX-2 Inhibitor Lead. **RSC Adv.** 14(42), 30647–30661, 2024.
- NIERI, P.; CARPI, S.; ESPOSITO, R.; COSTANTINI, M.; ZUPO, V. Bioactive Molecules from Marine Diatoms and Their Value for the Nutraceutical Industry. **Nutrients** 15(2), 464, 2023.
- REMIZE, M.; BRUNEL, Y.; SILVA, J. L.; BERTHON, J. Y.; FILAIRE, E. Microalgae n-3 PUFAs Production and Use in Food and Feed Industries. **Mar. Drugs** 19(2), 113, 2021.
- REN, X.; LIU, Y.; FAN, C.; HONG, H.; WU, W.; ZHANG, W.; WANG, Y. Production, Processing, and Protection of Microalgal n-3 PUFA-Rich Oil. **Foods** 11(9), 1215, 2022.
- WU, J.; WU, C.; RONG, C.; TIAN, J.; JIANG, N.; WU, R.; YUE, X.; SHI, H. Catalytic Mechanisms Underlying Fungal Fatty Acid Desaturases Activities. **Crit. Rev. Biotechnol.** 43(5), 753–769, 2023.