

Atividade antifúngica e toxicidade de chalconas frente à *Candida auris*: uma abordagem computacional

Antifungal activity and toxicity of chalcones against *Candida auris*: a computational approach

Mateus de Paula Menezes¹ , Francisco Nithael Melo Lucio² , Damião Sampaio de Sousa³ , Akenaton Onassis Cardoso Viana Gomes⁴ 

1. Discente do curso de Biomedicina, Centro Universitário Christus (Unichristus), Fortaleza, Ceará, Brasil. 2. Doutorando em Biotecnologia, Universidade Estadual do Ceará (UECE), Fortaleza, Ceará, Brasil. 3. Mestrando em Ciências Naturais, Universidade Estadual do Ceará (UECE), Fortaleza, Ceará, Brasil. 4. Docente do curso de Biomedicina, Centro Universitário Christus (Unichristus), Fortaleza, Ceará, Brasil.

Resumo

Objetivo: avaliar a interação e a possível atividade toxicológica e antifúngica de três derivados de chalcona chalA, chalB e chalC contra *Candida auris*. **Método:** simulação proteína-ligante através do software AutoDock Vina e predição da toxicidade pelo webserver ProTox 3.0. **Resultados:** os compostos mostraram afinidade pelo sítio de inibição da proteína e potencial efeito inibitório ($\Delta E_{chalA} = -7,3$ kcal/mol, $\Delta E_{chalB} = -7,8$ kcal/mol e $\Delta E_{chalC} = -7,5$ kcal/mol), quando comparado ao fármaco de referência ($\Delta E_{Flc} = -6,0$ kcal/mol). A análise das interações proteína-ligante mostrou que chalA e chalB tiveram, principalmente, interações hidrofóbicas, enquanto chalC foi capaz de formar ligações de hidrogênio. A predição toxicológica mostrou que o derivado chalB possui relativa segurança toxicológica em seu uso, enquanto o derivado chalA possui efeito hepatotóxico e chalC possui moderado efeito de arritmia e infarto. **Conclusão:** os dados analisados sugerem que todos os derivados apresentaram potencial antifúngico, com destaque para chalB, que mostrou o melhor perfil de atividade inibitória e toxicológica. Essa pesquisa fornece dados iniciais para futuros estudos in vitro e in vivo que possam corroborar a atividade *in silico* destes derivados de chalconas.

Palavras-chave: *Candida auris*; docking molecular; Chalcona.

Abstract

Objective: to evaluate the interaction and potential toxicological and antifungal activity of three chalcone derivatives, chalA, chalB, and chalC, against *Candida auris*. **Method:** protein-ligand simulations were conducted using the AutoDock Vina software, and toxicity predictions were made using the ProTox 3.0 webserver. **Results:** the compounds showed an affinity for the protein's inhibition site and potential inhibitory effects ($\Delta E_{chalA} = -7.3$ kcal/mol, $\Delta E_{chalB} = -7.8$ kcal/mol, and $\Delta E_{chalC} = -7.5$ kcal/mol) compared to the reference drug ($\Delta E_{Flc} = -6.0$ kcal/mol). Analysis of protein-ligand interactions revealed that chalA and chalB mainly had hydrophobic interactions, while chalC could form hydrogen bonds. Toxicity prediction indicated that chalB has relatively safe toxicological use, while chalA showed hepatotoxic effects and chalC exhibited moderate arrhythmia and infarction effects. **Conclusion:** the analyzed data suggest that all derivatives have antifungal potential, with a particular emphasis on chalB, demonstrating the best inhibitory and toxicological profile. This research provides initial data for future in vitro and in vivo studies that could support the *in silico* activity of these chalcone derivatives.

Keywords: *Candida auris*; molecular docking; Chalcone.

INTRODUÇÃO

Os fungos do gênero *Candida* (Itálico) são um dos principais patógenos humanos mais amplamente estudados e prevalentes, possuindo a capacidade de desencadear diversos tipos de doenças, incluindo as superficiais, cutâneas, subcutâneas e sistêmicas¹. Trata-se de uma levedura pertencente à microbiota humana, o que, em conjunto à sua ampla gama de apresentações clínicas e à diversidade de espécies que podem ser, potencialmente, patogênicas, torna o seu diagnóstico difícil².

A candidemia, infecções na corrente sanguínea causada por *Candida*, possui uma incidência de 0,29 a 1,95 casos por 1000 internações no mundo³. Na América Latina, esta taxa é de 1,18 casos por 1000 internações⁴, enquanto, no Brasil, esta taxa aumenta para 1,27 a 3,9 casos por 1000 internações. Esses

dados apontam para a candidemia como quarta maior causa de septicemias no país³.

A espécie de *Candida* não-*albicans* de maior importância desta década é a *Candida auris*. Identificada pela primeira vez em 2009 no Japão, a *C. auris* foi reconhecida como uma grave ameaça à saúde pública global devido ao fato de que algumas cepas de *C. auris* demonstraram resistência a todas as três principais classes de fármacos antifúngicos, os polienos, azóis e equinocandinas⁵. Em outubro de 2016, a OPAS/OMS lançou um alerta epidemiológico em função dos relatos de surtos deste patógeno em serviços de saúde da América Latina. No Brasil, o possível primeiro caso confirmado de infecção por *C. auris* ocorreu em dezembro de 2020 na Bahia⁶.

Correspondente: Mateus de Paula Menezes. Rua Padre Francisco Pinto, 3056, Ap 104 Torre 3 - Benfica, Fortaleza - 60020-290 e-mail: demateusmpm@gmail.com

Conflito de interesse: Os autores declaram não haver conflito de interesse

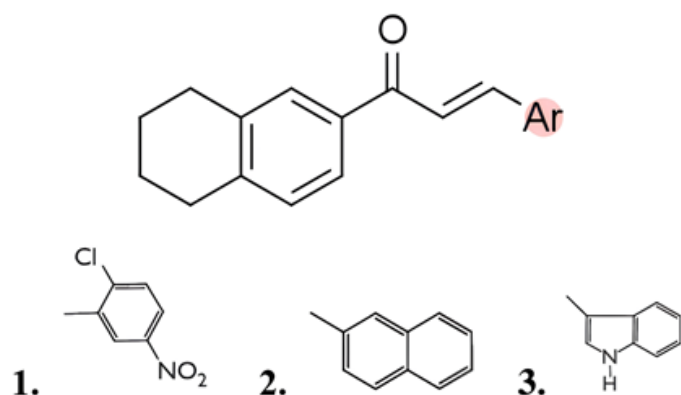
Recebido em: 13 Dez 2024; Revisado em: 27 Fev 2025; Aceito em: 20 Mar 2025

2 Atividade antifúngica e toxicidade de chalconas frente à *Candida auris*

Por causa da dificuldade de tratamento das espécies de *Candida* multirresistente, atualmente ocorre a busca por novas técnicas terapêuticas. A abordagem de descoberta de fármacos baseada em produtos naturais permite a produção de diversos análogos com propriedades físico-químicas otimizadas, especialmente pela reutilização de compostos previamente conhecidos por sua atividade biológica.

Neste contexto, as chalconas (figura 1) tratam-se de compostos naturais amplamente difundidas em plantas, pertencentes ao grupo dos flavonoides, que possuem estrutura simples e com grande número de hidrogênios substituíveis que possibilitam a obtenção de uma variedade de derivados⁷. Até o momento, a literatura mostra um amplo espectro de atividades biológicas para essa classe, como antimicrobiana⁸, antimalárica⁹, anticâncer¹⁰, anti-inflamatória¹¹, anti-HIV¹² e antioxidante¹³.

Figura 1. Estruturas bidimensionais de derivados de chalconas.



Legenda: 1. Estrutura da chalA - ((E)-3-(2-Cloro-5-nitrofenil)-1-(5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)prop-2-en-1-ona. 2. Estrutura da chalB - (E)-3-(naftalen-2-ila)-1-(5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-ila)prop-2-en-1-ona. 3. Estrutura da chalC - (E)-3-(1-H-indol-3-ila)-1-(5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-ila)prop-2-en-1-ona.

Fonte: autoria própria.

Assim, o presente trabalho tem como objetivo utilizar uma abordagem *in silico* de interação proteína-ligante por meio de Docking Molecular para analisar as possíveis interações dos derivados da chalcona com a polimerase FKBP12 da *Candida auris* e avaliar a sua possível toxicidade no organismo humano.

MÉTODOS

O presente trabalho trata de um estudo de Modelagem Molecular para predição da atividade antifúngica contra *Candida auris*, toxicidade em ratos e avaliação de efeitos adversos.

Seleção de ligantes

As estruturas dos derivados de chalconas foram obtidas por meio dos estudos de Hamdy e Kamel, que propuseram a

síntese de nove derivados de chalcona incorporadas a núcleos de piridina, pirazol e isoxazol, nos quais foram avaliadas as atividades inflamatórias e analgésicas¹⁴. Desta pesquisa, foram selecionados três derivados de chalcona para realização do docking com base em seu potencial difundido na literatura^{15,16}, sendo o composto ((E)-3-(2-Cloro-5-nitrofenil)-1-(5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-il)prop-2-en-1-ona codificado como chalA, o (E)-3-(naftalen-2-ila)-1-(5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-ila)prop-2-en-1-ona codificado como chalB e o (E)-3-(1-H-indol-3-ila)-1-(5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-ila)prop-2-en-1-ona codificado como chalC.

Preparação dos ligantes

As estruturas bidimensionais dos derivados de chalconas (chalA, chalB e chalC) foram modeladas, utilizando a webserver Playground© (<https://playground.calculators.cxn.io/>)¹⁷. Adiante, esses foram otimizados adotando a realização de 50 ciclos de interação com o algoritmo *steepest descent*, atribuídos ao campo de força MMFF94 (Merck Molecular Force Field) através do software Avogadro¹⁸ para a obtenção do conformero com a menor energia.

Preparação da proteína

O receptor em estudo foi obtido do repositório do banco de dados de proteínas *Protein Data Bank* (PDB) (<https://www.rcsb.org/>)¹⁹ sob o código IdPDB 6VSI, classificada como polimerase, sistema de expressão: *Escherichia coli* BL21 (DE3), e organismo: *Candida auris*, cuja estrutura cristalina foi obtida por difração de raios X em complexo com uma resolução de 1.87 Å²⁰. A preparação desta foi executada pelo software AutocTools^{21,22} em que foram removidos os resíduos e adicionados as cargas de Kollman e Gasteiger, assim como, átomos de hidrogênio polares²³.

Simulações

As simulações de docking molecular foram realizadas, utilizando uma gridbox, que define a região de atuação da simulação, ou seja, uma área posicionada estrategicamente sobre o alvo. Essa gridbox abrangeu, integralmente, a enzima, com dimensões nos eixos de x: 24.382, y: 5.938 e z: 4.272, e parâmetros de tamanho de x: 126, y: 82 e z: 122. Não obstante, as simulações de redocking do fluconazol (FLC), inibidor cristalizado do alvo FKBP12 da *Candida auris* utilizado como controle, e das chalconas foram vinculados para validação das simulações de docking molecular com parâmetros de 50 simulações independentes viabilizadas pela *Exhaustiveness* 64 e *Lamarckian Genetic Algorithm* (LGA)²⁴.

Os parâmetros estabelecidos para as simulações de docking molecular foram a melhor pose, na qual devem ser atendidos critérios estatísticos de Desvio- Padrão Quadrático Médio (RMSD) com valores de até 2 Å²⁵, e a energia de afinidade (ΔE) considerando princípios de idealidade com valores inferiores a -6,0 kcal/mol²⁶.

Detalhes computacionais

3 Atividade antifúngica e toxicidade de chalconas frente à *Candida auris*

Os códigos para o emprego das simulações computacionais foram estabelecidos: MarvinSketch® (<https://chemaxon.com/marvin>), Avogadro® (<https://avogadro.cc/>), Autodocktools® (<https://autodock.scripps.edu>), UCSF Chimera® (<https://www.cgl.ucsf.edu/chimera/>), Discovery Studio Visualizer® (<https://discover.3ds.com/discovery-studio-visualizer-download>), Protein-Ligand Interaction Profile© (<https://plip-tool.biotec.tu-dresden.de/plip-web/plip/index>) e Pymol® (<https://pymol.org/>).

Avaliação toxicológica

A avaliação toxicológica dos derivados de chalconas foram medidos pela webserver ProTox 3.0 visando à predição da dose letal oral em ratos²⁷.

Ademais, foram analisados os efeitos adversos dispostos pelos

Tabela 1. Dados sobre as interações ligante-receptor (L-R) no processo de redocking do antagonista FLC e simulações de docking molecular dos derivados chalaA, chalB e chalC via receptor FKBP12 de *Candida auris*.

Composto	Energia	RMSD	Resíduos	Dis(L-R) (Å)	Tipo Inter.
FLC	-6,0	1,460	Phe40A	3,70	Hidrofóbica
			Asp41A	4,64	Hidrofóbica
			Tyr86A	4,33	Hidrofóbica
			Phe91A	4,50	Hidrofóbica
			Ile95A	3,65	Hidrofóbica
			Tyr30A	3,64	Ligação-H
			Asp41A	3,64	Ligação-H
			Asp41A	3,19	Ligação-H
			Arg46A	3,65	Ligação-H
			Arg46A	3,62	Ligação-H
			Ile60A	3,17	Ligação-H
			Tyr86A	4,29	Ligação-H
			Phe91A	4,98	Empilhamento- π
			Asp41A	4,57	Ponte salina
chalaA	-7,3	1,771	Phe50A	3,57	Hidrofóbica
			Phe50A	3,77	Hidrofóbica
			His58A	3,78	Hidrofóbica
			Val59A	4,00	Hidrofóbica
			Val59A	4,72	Hidrofóbica
			Ile60A	3,31	Hidrofóbica
			Ile60A	3,83	Hidrofóbica
			Ile60A	3,96	Hidrofóbica
			Trp63A	3,59	Hidrofóbica
			Trp63A	3,78	Hidrofóbica
			Trp63A	3,54	Hidrofóbica
			Trp63A	4,19	Hidrofóbica
			Tyr86A	4,56	Hidrofóbica
			Phe103A	3,66	Hidrofóbica

4 Atividade antifúngica e toxicidade de chalconas frente à *Candida auris*

chalB	-7,8	0,693	Tyr30A	4,73	Hidrofóbica
			Phe50A	3,50	Hidrofóbica
			Phe50A	4,71	Hidrofóbica
			Gln51A	4,61	Hidrofóbica
			His58A	3,61	Hidrofóbica
			Val59A	4,03	Hidrofóbica
			Val59A	3,67	Hidrofóbica
			Ile60A	3,48	Hidrofóbica
			Ile60A	4,54	Hidrofóbica
			Ile60A	3,83	Hidrofóbica
			Trp63A	4,65	Hidrofóbica
			Trp63A	4,56	Hidrofóbica
			Trp63A	4,97	Hidrofóbica
			Tyr86A	4,95	Hidrofóbica
			Phe103A	3,64	Hidrofóbica
chalC	-7,5	1,369	Trp63A	3,97	Empilhamento- π
			Tyr30A	4,65	Hidrofóbica
			Phe50A	3,49	Hidrofóbica
			Phe50A	4,06	Hidrofóbica
			Val59A	4,31	Hidrofóbica
			Val59A	4,02	Hidrofóbica
			Ile60A	3,78	Hidrofóbica
			Ile60A	3,44	Hidrofóbica
			Ile60A	4,31	Hidrofóbica
			Trp63A	4,78	Hidrofóbica
			Trp63A	4,83	Hidrofóbica
			Phe103A	3,58	Hidrofóbica
			Tyr86A	4,76	Hidrofóbica
			Tyr30A	2,57	Ligação-H
			Asp41A	2,01	Ligação-H
			Phe50A	4,70	Empilhamento- π
			Trp63A	3,97	Empilhamento- π

*Esses incluem: ajuste estatístico de RMSD, energia de afinidade (ΔE), resíduos de interação de aminoácidos, distância ligante-receptor (dis(L-R)) e tipos de interação. *Ligante de controle utilizado nas simulações de docking molecular.

Evidencia-se que os ligantes estudados estabeleceram valores de RMSD inferiores a 2 Å. O controle FLC apresentou um RMSD = 1,460, enquanto o derivado chala exibiu um valor de RMSD = 1,771, chalB com RMSD = 0,693 e chalC com RMSD = 1,369. Desta forma, os ligantes proporcionaram uma seletividade à proteína considerando os parâmetros estabelecidos.

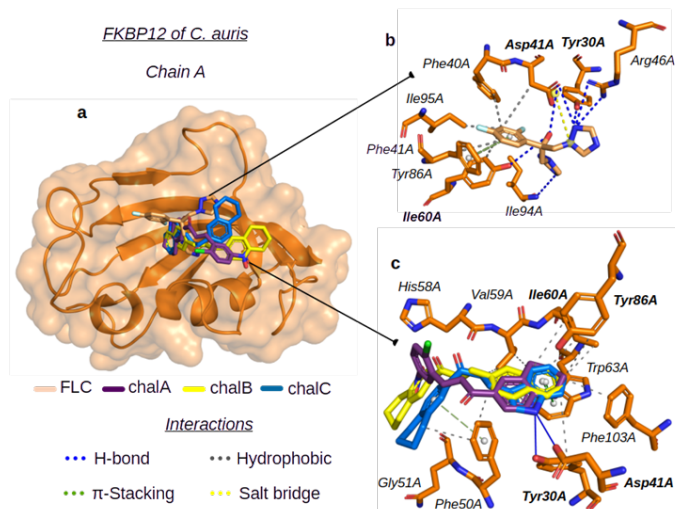
O composto chala apresentou quatorze interações hidrofóbicas com a polimerase FKBP12, sendo estas Phe50A (3,57 Å), Phe50A (3,77 Å), His58A (3,78 Å), Val59A (4,00 Å), Val59A (4,72 Å), Ile60A (3,31 Å), Ile60A (3,83 Å), Ile60A (3,96 Å), Trp63A (3,59 Å), Trp63A (3,78 Å), Trp63A (3,54 Å), Trp63A (4,19 Å), Tyr86A (4,56 Å) e Phe103A (3,66 Å). O derivado chalB apresentou,

por sua vez, 15 interações hidrofóbicas, sendo estas Tyr30A (4,73 Å), Phe50A (3,50 Å), Phe50A (4,71 Å), Gln51A (4,61 Å), His58A (3,61 Å), Val59A (4,03 Å), Val59A (3,67 Å), Ile60A (3,48 Å), Ile60A (4,54 Å), Ile60A (3,83 Å), Trp63A (4,65 Å), Trp63A (4,56 Å), Trp63A (4,97 Å), Tyr86A (4,95 Å) e Phe103A (3,64 Å), e uma interação por empilhamento- π , a Trp63A (3,97 Å). Por fim, a chalC apresentou duas ligações de hidrogênio, a Tyr30A (2,57 Å) e Asp41A (2,01 Å), duas interações empilhamento- π , em Phe50A (4,70 Å) e Trp63A (3,97 Å), e doze interações hidrofóbicas, Tyr30A (4,65 Å), Phe50A (3,49 Å), Phe50A (4,06 Å), Val59A (4,31 Å), Val59A (4,02 Å), Ile60A (3,78 Å), Ile60A (3,44 Å), Ile60A (4,31 Å), Trp63A (4,78 Å), Trp63A (4,83 Å), Phe103A (3,58 Å) e Tyr86A (4,76 Å).

5 Atividade antifúngica e toxicidade de chalconas frente à *Candida auris*

Foi determinado um posicionamento semelhante do composto controle fluconazol com os derivados de chalcona chalA, chalB e chalC (figura 2). O derivado chalA apresentou interação coincidente com o FLC nos resíduos Ile60A (3,83 Å) e Tyr86A (4,56 Å), o chalB com os resíduos Ile60A (3,48 Å), Tyr30A (4,73 Å) e Tyr86A (4,95 Å) e o chalC com os resíduos Ile60A (3,44 Å) (hidrofóbicas), Tyr30A (2,57 Å) e Asp41A (2,01 Å) (ligação de hidrogênio) (tabela 1; figura 2).

Figura 2. Interação 3D e 2D dos compostos.



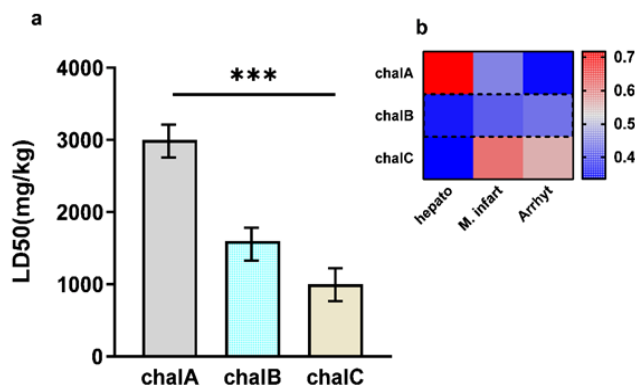
Legenda: a) Mapa tridimensional do receptor FKBP12 de *Candida auris* com FLC (nude), chalA (roxo), chalB (amarelo) e chalC (azul); b) estrutura bidimensional das interações entre os aminoácidos e os ligantes.

Fonte: autoria própria.

Análise toxicológica

Com base nas predições de toxicidade em ratos, observou-se que o derivado chalA apresenta a maior dose letal mediana (LD50), com um valor de LD50 = 3000 mg/kg. Em contraste, chalB apresentou LD50 = 1600 mg/kg e chalC apresentou LD50 = 1000 mg/kg, indicando que chalB e chalC apresentaram valores bastante inferiores em comparação com chalA (figura 3).

Figura 3. Análise toxicológica.



Legenda: a. Avaliação de LD50 (mg/kg). b. Pontos finais de toxicidade.

Fonte: autoria própria.

As predições dos efeitos adversos descreveram que chalB apresenta baixo impacto em todos os descritores analisados (hepatotoxicidade, arritmia e infarto do miocárdio). Por outro lado, chalA exibe um perfil hepatotóxico, enquanto chalC demonstra um potencial moderado para efeitos adversos relacionados à arritmia e infarto.

DISCUSSÃO

A pesquisa por novos medicamentos e técnicas terapêuticas pode ser demorada, desafiadora e dispendiosa²⁹. Por esses motivos, como uma alternativa para a etapa inicial da pesquisa de novos fármacos, têm sido utilizadas, cada vez mais, técnicas *in silico*, para a triagem de potenciais compostos. Nesse cenário, o docking molecular apresenta-se como uma das metodologias mais utilizadas pela sua capacidade de identificar potenciais alvos proteicos em microrganismos, além de permitir a triagem de moléculas com alta afinidade por esses alvos³⁰.

A análise das interações com a proteína FKBP12 é descrita na literatura por seu papel no controle da virulência de diversos fungos patogênicos. Ao ligar-se a antimicrobianos, o complexo resultante inibe a via de sinalização da calcineurina, tornando a FKBP12 um alvo potencial para o desenvolvimento de tratamentos antifúngicos mais eficazes, especialmente em contextos onde os fungos desenvolveram resistência aos tratamentos convencionais¹⁴.

Assim, em relação aos resultados obtidos por meio do docking molecular, foi observado que todos os derivados de chalcona estudados apresentaram interações hidrofóbicas com a enzima FKBP12, interações intermoleculares fracas, mas de grande importância no design de novos fármacos por causa de sua capacidade de aumentar a afinidade de ligação na interface alvo-droga e sua possibilidade de otimização de suas interações³¹. Além disso, o derivado chalC também apresentou ligações de hidrogênio, interação de maior intensidade que influenciam as estruturas de biomoléculas e modulam, significativamente, as interações proteína-ligante³².

Os resultados das simulações também indicaram que todos os três derivados de chalcona estudados apresentaram um valor de energia de ligação mais favorável que o fluconazol, ou seja, possuem uma afinidade maior do que a do controle. Esses dados apontam um possível efeito inibitório ao receptor da *C. auris* pelos derivados, indo de encontro às hipóteses levantadas sobre o potencial poder antimicrobiano dos derivados de chalcona^{7,8,15,16}. A pesquisa *in vivo*, porém, é necessária para validar os resultados obtidos.

Em relação à toxicidade dessas substâncias, de acordo com dados da Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB) o LD50 calculado as classificam como média toxicidade³³, apresentando, portanto, segurança em seu uso em humanos.

7 Atividade antifúngica e toxicidade de chalconas frente à *Candida auris*

27. Banerjee P, Kemmler E, Dunkel M, Preissner R. ProTox 3.0: a webserver for the prediction of toxicity of chemicals. *Nucleic Acids Res.* 2024 Jul; 52(W1): W513–20. doi: 10.1093/nar/gkae303.
28. Ivanov SM, Lagunin AA, Rudik AV, Filimonov DA, Poroikov VV. ADVERPred—web service for prediction of adverse effects of drugs. *J Chem Inf Model.* 2018 Jan; 58(1): 8–11. doi: 10.1021/acs.jcim.7b00568
29. Wouters OJ, McKee M, Luyten J. Estimated research and development investment needed to bring a new medicine to market, 2009-2018. *JAMA.* 2020 Mar; 323(9): 844-853. doi: 10.1001/jama.2020.1166.
30. Silva DR, Sardi JC, Freires IA, Silva ACB, Rosalen PL. In silico approaches for screening molecular targets in *Candida albicans*: A proteomic insight into drug discovery and development. *Eur J Pharmacol.* 2019 Jan; 842: 64–9. doi: 10.1016/j.ejphar.2018.10.016.
31. Patil R, Das S, Stanley A, Yadav L, Sudhakar A, Varma AK. Optimized hydrophobic interactions and hydrogen bonding at the target-ligand interface leads the pathways of drug-designing. *PLoS One.* 2010 Aug; 5(8): e12029. doi: 10.1371/journal.pone.0012029.
32. Jeffrey GA, Saenger W. Hydrogen bonding in biological structures. Berlin, Germany: Springer; 2012.
33. CETESB. Produtos de alta toxicidade [Internet]. São Paulo: CETESB; 2013 [citado 2024 Out 29]. Disponível em: <https://cetesb.sp.gov.br/emergencias-quimicas/aspectos-gerais/introducao-acoes-de-resposta/descontaminacao/produtos-de-alta-toxicidade>.

Como citar este artigo/ How to cite this article:

Menezes MP, Lucio FNM, Sousa DS, Gomes AOCV. Atividade antifúngica e toxicidade de chalconas frente à *Candida auris*: uma abordagem computacional. *J Health Biol Sci.* 2025; 13(1):e5663.

J. Health Biol Sci. 2025; 13(1):e5663