

## Construção de uma biblioteca de fragmentos moleculares para o desenvolvimento de novos fármacos.

Eliã B. Marins<sup>1\*</sup> (IC), Lívia C. R. M. da Frota<sup>2</sup> (PG), Sara L. S. Gomes<sup>2</sup> (PG), Carolina C. de Souza<sup>2</sup> (PG), Paula F. de Novaes<sup>2</sup> (IC), Evanoel. C. de Lima<sup>2</sup> (PG), Raquel Ana C. Leão<sup>2</sup> (PQ), Alcides J. M. da Silva<sup>3</sup> (PQ), Ayres G. Dias<sup>4</sup> (PQ), Paulo R. R. Costa<sup>2</sup> (PQ), Luzineide W. Tinoco<sup>1</sup> (PQ).

<sup>1</sup>Laboratório de Análise e Desenvolvimento de Inibidores Enzimáticos e Laboratório Multiusuário de Análises por RMN,

<sup>2</sup>Laboratório de Química Bioorgânica – <sup>3</sup>Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais, UFRJ, Cidade Universitária, CCS, Bl. H, Rio de Janeiro, 21941-902, RJ, Brasil. [e-lika@hotmail.com](mailto:e-lika@hotmail.com)

<sup>4</sup>Instituto de Química, Departamento de Química Orgânica, UERJ, Rio de Janeiro, 22250-040, RJ, Brasil.

Palavras Chave: *ligante-proteína, regra dos três, RMN, Saturation Transfer Difference*

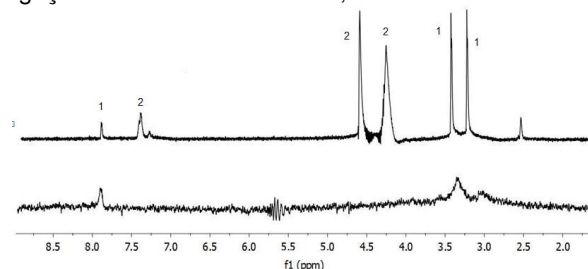
### Introdução

A descoberta e o aperfeiçoamento de fármacos a partir da combinação de fragmentos moleculares representa uma estratégia lógica e eficiente, que vem sendo usada com sucesso por indústrias farmacêuticas em todo o mundo. Fragmentos são pequenas moléculas que atuam como ligantes altamente eficientes e mostram uma alta afinidade de ligação para determinado peso molecular. Embora se liguem fracamente à enzima, são pequenos o suficiente para minimizar as chances de interações desfavoráveis que impediriam uma ligação eficiente<sup>1</sup>. A triagem dos fragmentos moleculares por RMN, apesar de sua baixa sensibilidade, permite detectar interações intermoleculares entre ligante e enzima, mesmo que sejam fracas<sup>2</sup>. Neste trabalho foram usados e analisados por RMN <sup>1</sup>H 70 fragmentos selecionados de acordo com a regra dos três<sup>3</sup>, a fim de gerar um banco de dados para testes de ligação com diferentes enzimas.

### Resultados e Discussão

A biblioteca foi construída com 70 fragmentos que têm em média, peso molecular de 191 Da; log P 1,31; área da superfície polar 51,8; número de anéis 1,8; e 2,2 ligações rotativas. As amostras dos fragmentos foram preparadas em DMSO-*d*<sub>6</sub> (50 mM) e analisadas a 25 °C em um espectrômetro Varian de 500 MHz. Após a aquisição, todos os espectros de RMN de <sup>1</sup>H foram processados no programa MestReNova e foi feita a atribuição de todos os hidrogênios em cada espectro. Os compostos foram agrupados de acordo com os seus deslocamentos químicos para evitar a sobreposição de sinais. As misturas dos fragmentos foram preparadas em D<sub>2</sub>O e analisadas por RMN de <sup>1</sup>H. Foram feitos testes de ligação com a proteína nucleosídeo hidrolase de *Leishmania donovani* (NHLd) que foi expressa e purificada previamente<sup>4</sup>. A relação de concentração entre proteína e a mistura dos fragmentos foi de 1:1000, respectivamente. As análises de ligação fragmento-

proteína foram feitas por RMN usando a técnica de STD (*Saturation Transfer Difference*), na qual somente são observados no espectro os sinais dos hidrogênios da(s) molécula(s) que se liga(m) à proteína (Figura 1). De acordo com os testes de ligação, os ligantes identificados possuem peso molecular em média 136 Da, log P < 0, área da superfície polar em média 62,5 e número de ligações rotativas em média 1,3.



**Figura 1:** A) Espectro de RMN de <sup>1</sup>H de uma mistura com 2 fragmentos. B) Espectro STD mostrando a ligação de somente um dos fragmentos à NHLd.

### Conclusões

A técnica de seleção de fragmentos se mostrou muito eficiente possibilitando a identificação de alguns fragmentos moleculares que se ligam a NHLd. Esta identificação irá contribuir para o planejamento de novos inibidores para esta enzima.

### Agradecimentos

À professora Clarisa Palatinik (IMPPG-UFRJ) pelo clone pMal-NHLd; FINEP, CNPq, INBEB.

<sup>1</sup>Barelier, S; Pons, J. *J. Med. Chem.* **2010**, 53, 5256–5266.

<sup>2</sup>Dalvit, C. *Drug Discovery Today* **2009**, 14, 21/22, 1051-1057.

<sup>3</sup>Congreve, M; Carr, R; Murray, C. *Drug Discovery Today* **2003**, 8, 876-877.

<sup>4</sup>Tese de doutorado: Rennó, M. Avaliação da atividade inibitória de protótipos sobre a nucleosídeo hidrolase de *leishmania donovani*. IME, 2009.