

Planejamento de Inibidores da Enzima Cruzaína Baseado em Fragmentos: Docagem e Dinâmica molecular

Emanuella M. B. Fonseca^{1,2*}(PG), Josmar R. Rocha²(PG), Geraldo R. Sartori²(PG), Carlos A. Montanari²(PQ) *emanuella.fonseca@gmail.com

¹ Departamento de Química/UFSCar – Rod. Washington Luís, Km 235, CP 676, CEP13565-905, São Carlos/SP, Brasil.

² Grupo de Estudos em Química Medicinal de Produtos Naturais (NEQUIMED-PN)/Instituto de Química de São Carlos, USP - Av. Trab. São-carlense, 400, CP780, CEP 13560-970, São Carlos/SP, Brasil.

Palavras Chave: cruzaína, doença de Chagas, docking, dinâmica molecular

Introdução

A enzima cruzaína (3.4.22.51) constitui um alvo validado para a quimioterapia da doença de Chagas e sua inibição vem sendo estudada no planejamento de novos fármacos.¹ Relatos da literatura demonstram que o planejamento de inibidores baseados em fragmentos (FBLD) é mais eficiente na geração de compostos-matrizes com propriedades adequadas para seguir na gênese planejada de fármacos. Substâncias com baixa complexidade molecular permitem a uma varredura mais eficaz do espaço-químico com um número menor de compostos, além de permitir maior tratabilidade química.² Por este motivo, o objetivo deste trabalho consiste do emprego de métodos de docagem e dinâmica molecular (MD) para a seleção de fragmentos moleculares com potencial para inibição *in vitro* da cruzaína.

Resultados e Discussão

Em estudo anterior³, os resíduos GLU205, SER207, ASP69 e MET68 foram identificados, através da abordagem GRID/CPCA, como chaves para a interação de pequenas moléculas com a cruzaína no sítio S2. Com base nesses resultados, uma coleção de 76.800 moléculas com características fragmento-similares foi recuperada do ZINC⁴ e utilizada para os estudos de interação com a alvo. Em uma primeira etapa, os compostos foram docados no sítio ativo da enzima (PDB: 1ME4), com o programa Glide v5.5, utilizando os aminoácidos previamente citados como restrições farmacofóricas e função de pontuação *extra-precision*. Após análise por inspeção visual das poses obtidas na docagem, seis fragmentos (figura 1), cujos valores de pontuação e eficiência do ligante (LE) preditos são apresentados na Tabela 1, foram selecionados para simulações de MD para o estudo da estabilidade dos mesmos no sítio de interação da enzima. A enzima complexada com o fragmento na pose predita, obtida na docagem, foi usada como estrutura inicial para a MD em solvente explícito TIP3P, realizada através do software Amber v11 em três etapas: I) simulação a 310 K por 8 ns; II) *simulated annealing* por 170 ps a 200-500 K; III) simulação a 310 K por 4 ns. Com o aquecimento à elevada temperatura, o sistema é capaz de ocupar configurações de alta energia, saindo de mínimos locais e, com a diminuição da temperatura, os estados de menor energia tornam-se mais prováveis. Os resultados sugerem uma posição para

os fragmentos 1, 3 e 5 no sítio de interação da enzima, consistente com os resultados obtidos no docagem (Figura 1A), já que três fragmentos permaneceram no sítio S2, apresentando RMSD por volta de 1,0Å (Figura 1B). Os demais fragmentos não foram capazes de manter o modo de interação (MOB) durante a simulação, deslocando-se para outros bolsões dentro do sítio ativo da enzima. Apesar de os compostos que foram docados terem boa afinidade pelo alvo, quando se considera a flexibilidade da proteína, algumas poses não se mantêm, e por isso, somente aqueles que mantiveram as poses foram selecionados.

Tabela 1. Pontuação e eficiência do ligante predita.

| Molécula | Pontuação (Kcal.mol ⁻¹) | LE predita |
|-------------|-------------------------------------|------------|
| Fragmento 1 | -6,90 | 0,46 |
| Fragmento 2 | -6,45 | 0,43 |
| Fragmento 3 | -6,44 | 0,40 |
| Fragmento 4 | -6,09 | 0,29 |
| Fragmento 5 | -5,25 | 0,38 |
| Fragmento 6 | -3,95 | 0,23 |

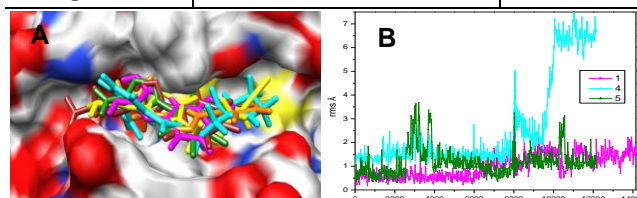


Figura 1. A) Poses obtidas pela docagem para os fragmentos, B) RMSD dos fragmentos 1*, 4 e 5. Fragmentos: 1 - magenta, 2 - amarelo, 3 - laranja, 4 - ciano, 5 - verde e 6 – marrom (*no fragmento 1 foi necessário mais 2 ns de simulação para estabilização da molécula no sítio).

Conclusões

Neste trabalho, apresentamos uma abordagem computacional para a seleção de fragmentos moleculares com potencial para inibir a enzima cruzaina. As moléculas destacadas aqui serão usadas em ensaios de inibição da enzima para validação dos resultados obtidos.

Agradecimentos

IQSC/USP, FAPESP, CAPES, CNPq, Schrödinger, OpenEye

¹ McKerrow, J. H.; PS Doyle, P. S.; et al. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2009, 104 (Suppl. I), 263-269.

² Hajduk, P.J.; Greer, J. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2007, 6, 211.

³ Fonseca, E. M. B., *Braz Med Chem* 2010, 2010.

⁴ Irwin and Shoichet, *J. Chem. Inf. Model.*, 2005, 45(1),177-182.