

Simulação por dinâmica molecular da enzima cruzaina do *Trypanosoma cruzi*.

Osmair Vital de Oliveira (PQ). osmair@ifes.edu.br

Instituto Federal do Espírito Santo - campus Vila Velha, Av. Salgado Filho, S/N, Bairro Soteco, Vila Velha – ES, Brasil.

Palavras Chave: Dinâmica molecular, ensemble docking, cruzaina, *Trypanosoma cruzi*.

Introdução

Embora a doença de Chagas, causada pelo parasita *Trypanosoma cruzi*, tenha sido descoberta a mais de 100 anos pelo brasileiro Carlos Chagas, ainda não se encontra um fármaco eficiente no tratamento dessa doença. Dentre os vários alvos terapêuticos utilizados, a enzima cruzaina tem se destacado¹. Essa enzima é uma cisteína protease responsável pelo desenvolvimento e diferenciação do *T. cruzi*. Deste modo, entender o comportamento energético e estrutural dessa enzima em solução aquosa é essencial no desenvolvimento de inibidores dessa. Portanto, no presente trabalho, propomos estudar a cruzaina em meio aquoso via simulação de dinâmica molecular (MD). A partir da trajetória obtida por DM, iremos elaborar um *ensemble docking* para posteriores estudos de *docking* e *virtual screening*. Onde, *ensemble docking*² é a utilização de um conjunto de estruturas, que podem ser obtidas a nível teórico ou experimental, em estudos de *docking*. A vantagem dessa abordagem é que o efeito do solvente e da temperatura estão incorporados na estrutura da enzima de interesse.

Resultados e Discussão

A simulação de DM foi realizada no programa GROMACS 4.0.7 e o *ensemble NpT* ($p = 1\text{ bar}$ e $T = 310\text{ K}$) foi considerado. O campo de força OPLS-AA e o modelo SPC foram utilizados para descrever os parâmetros estruturais e energéticos da cruzaina e da água, respectivamente. A estrutura inicial da enzima foi obtida a partir do banco de dados PDB (<http://www.rcsb.org/>) com código 1ME4. A enzima na forma apo (sem ligantes) foi inserida em uma caixa cúbica de 8,0 nm de aresta e 16.091 moléculas de águas foram adicionadas. O tempo total de simulação do sistema foi de 30 ns.

Valores de RMSD (Root Mean Square Deviation) mostram que a estrutura da enzima sofre pequenas mudanças conformacionais ao longo da simulação, mantendo valores de RMSD abaixo de 0,25 nm. Onde, a principal diferença estrutural observada foi no *loop* Asp57-Leu67. Isso se deve ao fato que, na forma holo, o ligante estabiliza essa região, o que torna-a importante no

planejamento de inibidores. Entretanto, essa mudança conformacional não afeta a posição dos resíduos catalíticos: Cys25 e His159. A simulação por DM mostra que ocorre a abertura do sítio ativo da enzima na forma apo, o que facilita a entrada do ligante no sítio. Portanto, acreditamos que na transição apo-holo, ocorre o fechamento do sítio ativo da enzima. Esse efeito ajuda a proteger o sítio ativo, o que é crucial no processo enzimático. A figura a seguir mostra o *ensemble docking* gerado a partir de 15 estruturas obtidas no intervalo de 2 ns da trajetória de DM.

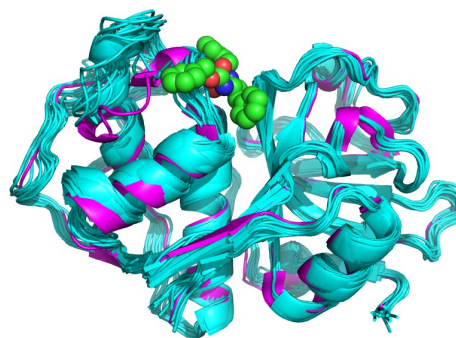


Figura 1. *Ensemble docking*, obtido por DM, a ser utilizado em cálculos de *docking* e *virtual screening*. Em cor magenta e em esfera, a estrutura cristalina da cruzaina complexada com um inibidor.

Atualmente, cálculos de *docking* e *virtual screening* no *ensemble docking* acima estão sendo realizados visando obter inibidores da cruzaina.

Conclusões

Os resultados obtidos por MD mostram que a enzima cruzaina na forma apo, ocorre a abertura do sítio ativo da enzima. Dado esse importante no planejamento de inibidores da cruzaina. Além disso, um *ensemble docking* foi elaborado para a realização de cálculos de *docking* e *virtual screening*.

Agradecimentos

IFES e FAPES

¹Cazzulo, J.J., Stoka, V., Turk, V. *Current Pharmac. Des.* **2001**, 7, 1143

²Craig, I.R., Essex, J.W., Spiegel, K. *J. Chem. Inf. Model.*, **2010**, 50, 511