

Modelagem Comparativa de Metaloprotease de Peçonha de Serpente e Estudo de interação por Docking de Novos Ligantes

Francis B. Ferreira^{1*}(PG), Veridiana M. R. Ávila²(PQ), Felipe Vitória¹ (PG), Carlos A. Barros¹ (IC), Arthur E. Kümmerle¹ (PQ), Carlos Mauricio R. Sant'Anna¹(PQ).

¹Departamento de Química, Instituto de Ciências Exatas, UFRRJ.

²Instituto de Genética e Bioquímica, UFU.

Palavras-chave: Peçonha de serpentes, Metaloprotease, inibidores.

Introdução

Acidentes ofídicos causados por serpentes são um problema de saúde pública considerado como uma doença negligenciada¹. O tratamento mais utilizado e eficiente é o soro antiofídico, porém podem ocorrer reações adversas, como hipersensibilidade². O dano tecidual é causado, principalmente, por enzimas proteolíticas, como metaloproteases, as quais também podem causar distúrbios hemostáticos³. Neste trabalho, foram utilizadas moléculas sintéticas selecionadas na quimioteca do LaDMol-QM para o estudo das interações destas com o sítio ativo da enzima através de *docking*. Além disso, este trabalho realizou uma triagem da atividade biológica destas moléculas para validar o modelo teórico.

Resultados e Discussões

A estrutura cristalográfica de uma metaloprotease (BaPI) complexada com um inibidor (um peptideomimético) (código PDB 2W12) foi utilizado como molde para a construção do modelo 3D da metaloprotease da peçonha de *B. pauloensis* (BpMP-I)³. O servidor Swiss-MODEL⁴ foi utilizado para gerar o modelo 3D inicial da BpMP-I. De acordo com o programa Swiss-PDB Viewer, o modelo apresentou um RMSD de 0,24 Å com o molde e 98% dos aminoácidos nas regiões permitidas do gráfico de Ramachandran. As moléculas utilizadas neste estudo foram obtidas da quimioteca LaDMol-QM e têm suas sínteses apresentadas na Figura 1, onde foi feita a reação de condensação de aldeídos aromáticos e heteroaromáticos com tiosemicarbazida ou semicarbazida em meio de etanol e HCl.

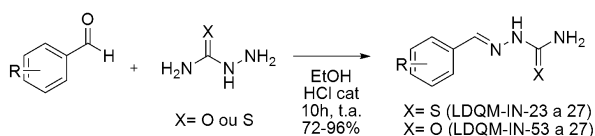


Figura 1. Síntese dos compostos

As mesmas foram construídas e suas energias minimizadas pelo método PM3 (Spartan'08, (Wavefunction) para o estudo teórico, sendo ancoradas no sítio de ligação da enzima utilizando o programa GOLD 5.1 (CCDC). A função de pontuação GoldScore foi escolhida após um experimento de re-ancoramento do inibidor co-cristalizado com a BaPI, resultando em um RMSD de 0,42 Å (Fig. 1). Os melhores valores de pontuação dos ligantes para as soluções do ancoramento, estão apresentados na tabela 1. A Figura 2 mostra as principais interações da Molécula 23 no sítio de ligação da enzima.

Uma triagem, realizada através de um experimento de inibição da atividade enzimática da BpMP-I para estes compostos, mostrou que os compostos LDQM-IN-22, 23, 24, 25 e 27 são mais ativos quando comparados com

LDQM-IN-53, 54, 55, 56, 57, 58 e 59, concordando com os resultados do ancoramento.

Tabela 1: Pontuações de *docking* dos ligantes na BpMP-I.

Ligante	Pontuação	X	Ar
LDQM-IN-23	66,01	S	4-OMe-Ph
LDQM-IN-27	62,31	S	4-Br-Ph
LDQM-IN-24	60,77	S	4-Cl-Ph
LDQM-IN-22	56,28	S	Ph
LDQM-IN-25	53,46	S	3-OH,4-OMe-Ph
LDQM-IN-58	52,24	O	4-OMe-Ph
LDQM-IN-57	51,83	O	4-COOH-Ph
LDQM-IN-59	50,01	O	4-Cl-Ph
LDQM-IN-53	49,01	O	2,4-OH-Ph
LDQM-IN-55	47,80	O	4-OH-Ph
LDQM-IN-56	47,24	O	3-OH,4-OMe-Ph
LDQM-IN-54	47,03	O	3-OH -Ph

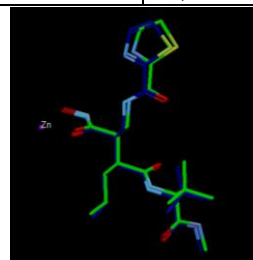


Figura 1. Comparação da estrutura original cristalizada (azul) com a solução do GoldScore (verde).

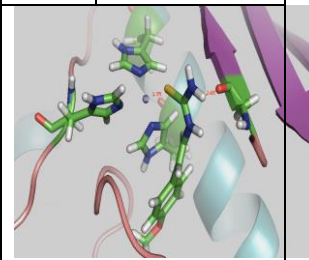


Figura 2. Interações obtidas para a molécula LDQM-IN-23 após o docking com o sítio catalítico da BpMP-I.

Conclusões

A modelagem comparativa da BpMP-I resultou em uma estrutura 3D de alta qualidade. A função de pontuação GoldScore foi satisfatória para determinar a geometria de interação do inibidor com a enzima. Os resultados de ancoramento mostraram que algumas moléculas avaliadas podem interagir efetivamente com a BpMP-I e o melhor ligante foi a LDQM-IN-23. As principais interações desta molécula com a enzima foi a ligação de hidrogênio com o resíduo Gly109, além de uma interação eletrostática do enxofre com o íon Zn²⁺. Os resultados serão utilizados para propor modificações a serem implementadas sinteticamente com objetivo de melhorar a interação destas moléculas com a enzima.

Agradecimentos

CAPES, CNPq, INCT-INOVAR, FAPERJ.

¹Gutierrez, J. M. *et al. PLoS Medicine*, **2006**, 3, 727-731.

²Bucarechi, F. *et al. Rev Inst Med Trop S Paulo*, **2002**, 44, 133-138.

³Naves-de-Souza, D. L. *et al. Comp.Biochem. Physiol B*, **2012**, 161, 102-109.

⁴Arnold, K. *et al. Bioinformatics*, **2006**, 22, 195-201.