

## Participação das moléculas de água nos estudos de ancoragem molecular de inibidores de protease do vírus da dengue

GODOI, I. P<sup>1</sup>; LIMA, W.G<sup>1</sup>; ALVES, R.J.<sup>2</sup>; COMAR JR, M<sup>1</sup>; FERREIRA, J.M.S<sup>1</sup>; MIZUNO, C<sup>3</sup>; TARANTO, A.G<sup>1</sup>

### RESUMO

*O vírus da dengue (DENV) caracteriza-se como vírus de grande importância clínica, uma vez que acometem milhões de pessoas anualmente em todo o mundo. Estratégias para o desenvolvimento de medicamentos voltados para o combate e controle do DENV tornam-se de extrema relevância e necessidade, uma vez que até o momento não se tem disponível nenhum tratamento específico contra o mesmo. Nesse contexto, destaca-se o complexo NS2B-NS3pro, essencial para replicação e maturação do DENV, sendo um potencial alvo farmacológico. O presente estudo tem como objetivo avaliar os resultados de ancoragem molecular, realizada na presença e ausência de moléculas de água, desenvolvido para avaliar a afinidade potenciais candidatos a inibidores de NS2B-NS3pro.*

**Palavras-chave:** Dengue, NS3, modelagem molecular, ancoragem molecular, água.

### INTRODUÇÃO

A dengue é uma doença infecciosa, que atinge, aproximadamente, 2,5 bilhões de pessoas em mais de 100 países<sup>1</sup> e tem como agente causador um vírus do gênero *Flavivirus*, transmitido ao homem através da picada do mosquito do gênero *Aedes*, especialmente pelo *Aedes aegypti*. O vírus da Dengue (DENV) apresenta como material genético o ácido ribonucleico (RNA), de polaridade positiva (+ss RNA), com aproximadamente 11Kb

que codifica uma proteína com aproximadamente 3.400 aminoácidos, cuja clivagem é realizada por proteases celulares e virais dando origem a proteínas estruturais e não estruturais. Um dos alvos moleculares mais promissores e estudados para o desenvolvimento de terapias específicas para o combate à dengue é a proteína multifuncional NS3 (aproximadamente 70 kDa) e que é essencial ao DENV, uma vez que auxilia no processamento da poliproteína, bem como na replicação do genoma viral<sup>2</sup>.

A ancoragem molecular, denominado no inglês *docking*, refere-se a um processo computacional que prevê a ligação de uma macromolécula e uma pequena molécula (ligante), considerada como uma importante etapa a ser avaliada no desenvolvimento de medicamentos. Esta análise aplica-se, na maioria dos casos, em cálculos envolvendo o receptor na sua forma praticamente ou totalmente rígido, uma vez que se consideram os comprimentos e ângulos de ligações praticamente constantes<sup>3</sup>. A participação das moléculas de água na interface da formação do complexo proteína-ligante é um dos principais desafios a serem enfrentados pela ancoragem molecular. Uma vez que diversas ações podem estar associadas às mesmas, como a viabilização da interação receptor-ligante, bem como o deslocamento do ligante<sup>4</sup>. O presente estudo tem como objetivo avaliar o efeito da participação das moléculas de água na metodologia de ancoragem molecular, realizado com 10 potenciais candidatos a inibidores do complexo NS2B-NS3pro.

### MATERIAL E MÉTODOS

Inicialmente, realizou-se o estudo de *redock* na presença e ausência de moléculas de água no sítio ativo utilizando o inibidor protótipo, denominado D1, e o receptor previamente construído NS2B-NS3pro do DENV-2<sup>5</sup> utilizando o programa AutoDock Vina 1.5.4<sup>3</sup>. A partir da validação do modelo do complexo protéico construído de DENV-2 foi realizada uma triagem virtual de candidatos a inibidores, baseada na similaridade ao D1 através do o banco de dados Zinc<sup>6</sup>. Os compostos encontrados

<sup>1</sup> Universidade Federal de São João Del-Rei, Campus Centro Oeste (CCO), Avenida Sebastião Gonçalves Coelho, 400, bairro Chanadour, 35501-296, Divinópolis, Minas Gerais, Brasil.

<sup>2</sup> Universidade Federal de Minas Gerais, Avenida Antônio Carlos, 6627, bairro Pampulha, 31270-901, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.

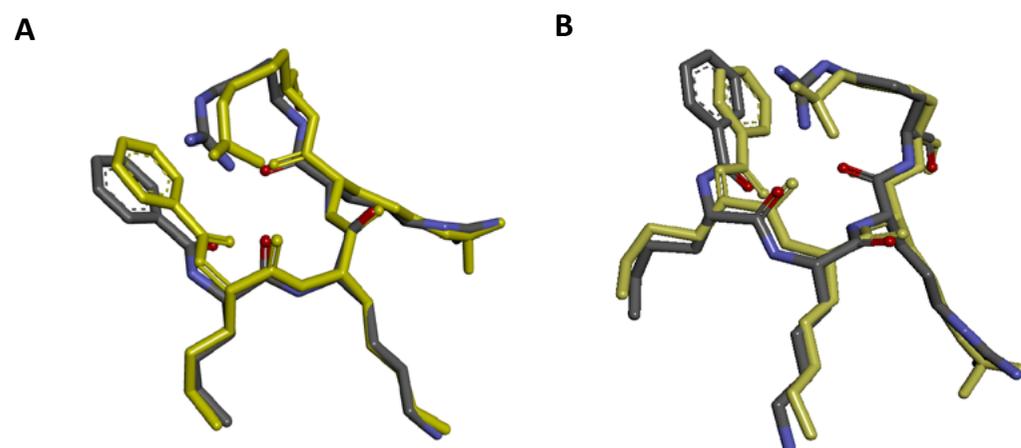
<sup>3</sup> University of New England, College of Pharmacy, Portland, ME 04103. USA.  
E-mail: (isabellapiassi@hotmail.com)

foram ancorados na presença e ausência de moléculas de água, sendo selecionados os melhores resultados para avaliar a relevância das moléculas de água no estudo de ancoragem molecular. As interações intermoleculares foram avaliadas, utilizando o programa *Discovery Studio Visualizer 2.5<sup>7</sup>*, pelo composto que apresentou maior variação em relação à energia de afinidade (kcal/mol) na presença e ausência de água.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O estudo de *redock*, na presença e ausência de água apresentou, respectivamente, os valores desvio médio quadrático (RMSD) de 0,73Å (Fig 1A) e 0,91Å (Fig 1B).

Figura 1. Sobreposição das conformações D1 obtidas no *redock* (cinza) e do modelo (amarelo) na presença (A) e na ausência de água (B).



O processo de triagem virtual resultou em 60 compostos candidatos a inibidores do complexo NS2B-NS3pro, dos quais foram selecionados os 10 compostos com maior afinidade. As energias obtidas na ancoragem molecular das substâncias selecionados estão resumidas na Tabela 1.

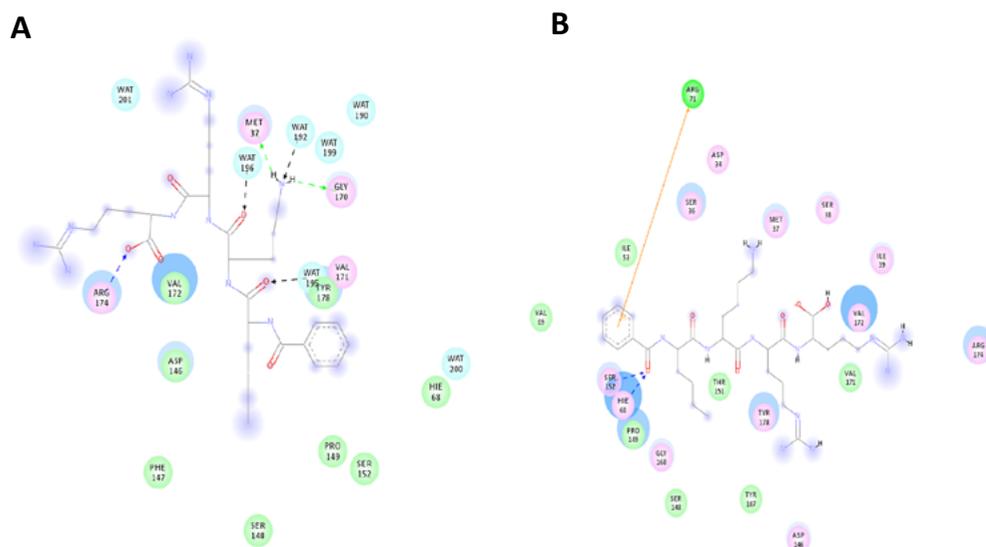
Tabela 1. Energias (kcal/mol) de afinidade dos compostos selecionados da triagem virtual.

Composto	Energia de Afinidade	
	(Presença de água)	(Ausência de água)
D1	-13,8	-11,0
1A	-8,20	-7,90
2A	-8,20	-7,40
3A	-8,70	-8,60
4A	-8,40	-7,40
5A	-7,80	-10,00
6A	-8,30	-8,40
7A	-8,50	-8,90
8A	-8,40	-8,20
9A	-7,70	-9,00
10A	-7,10	-8,50

A participação das moléculas de água em um estudo de ancoragem molecular é de extrema importância, uma vez que as mesmas podem atuar tanto no intuito de contribuir ou prejudicar a formação dos complexos receptor-ligante, como descrito na literatura<sup>3,8</sup>, o que pode ser verificado nos resultados apresentados. Uma vez que a presença de água atuou favoravelmente para a formação dos complexos com 2A e 4A, o que não ocorreu para os ligantes 5A, 9A e 10A, que apresentaram uma diminuição significativa da energia de afinidade quando na ausência de água.

Dentre os compostos estudados o composto 5A foi escolhido para descrever o efeito do solvente por apresentar maior variação entre as energias de ligação, no qual foi capaz de realizar ligações hidrogênio com 03 moléculas de água (Fig. 2A). Contudo, o maior número de ligações de hidrogênio, sendo 12 interações na ausência e 4 na presença de água, bem como o tipo de interações envolvendo resíduos (His68 e Ser152) presentes no sítio ativo deste receptor são alguns dos possíveis fatores que podem ter contribuído para a maior afinidade deste ao complexo NS2B-NS3pro quando na ausência de água (Fig 2B).

Figura 2. As interações encontradas para o complexo NS2B-NS3pro-5A na presença e ausência de água são apresentadas, respectivamente, nas letras A e B.



## CONCLUSÕES

A ancoragem molecular é uma ferramenta importante no processo de desenvolvimento de fármacos uma vez que permite avaliar aspectos relevantes dentro do processo de desenvolvimento de medicamentos. A participação das moléculas de água neste tipo de estudo torna-se relevante, uma vez presente em meio biológico, o que possibilita uma maior reprodutibilidade da técnica. Finalmente, as características estruturais, conformacionais e impedimento estérico referente aos compostos avaliados, são alguns dos aspectos que podem interferir no tipo de participação da água no processo de formação do complexo receptor-ligante.

## AGRADECIMENTOS

Este estudo é apoiado pela FAPEMIG (CDS-APQ-02337-12, CBB-APQ-01301-11) e I.P.G agradece pela bolsa de mestrado.

## REFERÊNCIAS

- (1) TOMLINSON, S. M; MALMSTROM, R. D; WATOWICH, S.J. New Approaches to Structure-Based Discovery of Dengue Protease Inhibitors. *Infectious Disorders - Drug Targets*, v.9, p. 1-17, 2009.
- (2) BOLLATI, M *et al.* Structure and functionality in flavivirus NS-proteins: Perspectives for drug design. *Antiviral Research*, v. 87, p. 125-148, 2010.
- (3) TROTT, OLEG; OLSON, J.A. Software News and Update AutoDock Vina: Improving the Speed and Accuracy of Docking with a New Scoring Function, Efficient Optimization, and Multithreading. *J Comput Chem*, v. 31, p. 455-461, 2010
- (4) JONES, G; WILLETT, P; GLEN, R.C. Molecular Recognition of Receptor Sites using a Genetic Algorithm with a Description of Desolvation. *J. Mol. Biol.*, v.245, p. 43-53, 1995.
- (5) GODÓI, I.P *et al.* Development of Dengue Protease Inhibitors by Molecular Modeling. *Anais do VI Brazmedchem – 2012*
- (6) IRWIN, J.J.; SHOICHET, K.B. ZINC – A Free Database of Commercially Available Compounds for Virtual Screening, *J Chem Inf Model*, v.31, n.1, p. 177-182, 2005.
- (7) *Accelrys Software Inc., Discovery Studio Modeling Environment, Release 2.5, San Diego: Accelrys Software Inc, 2011.*
- (8) Verdonk, M.L *et al.* Modeling Water Molecules in Protein-Ligand Docking using Gold. *J. Med. Chem* v. 48, p. 6504-6515, 2005.