

SIMULAÇÕES COMPUTACIONAIS DE MECANISMOS DE AÇÃO DE NOVOS FÁRMACOS.

DAIANE F. DE OLIVEIRA¹, FILIPE C. D. LIMA²

¹ Graduando em Licenciatura em Química, PIVICT, IFSP, Câmpus Matão, daia.fer2907@gmail.com

² Doutor em Física, IFSP, Câmpus Matão, fdlima@ifsp.edu.br

Área de conhecimento (Tabela CNPq): 1.06.00.00-0 Química

Apresentado no
9º Congresso de Inovação, Ciência e Tecnologia do IFSP
11 a 13 de dezembro de 2018 - Boituva-SP, Brasil

RESUMO: A maior parte dos Anti-Inflamatórios Não Esteroides (AINEs) encontrados hoje no mercado contam com inúmeras reações adversas, portanto a busca por novos fármacos com essa problemática menor é muito grande nas indústrias farmacêuticas. Este trabalho, foi focado em investigar como o alcalóide epiisopiloturina (EPI) que é uma das matérias-primas das folhas de jaborandi (*P. microphyllus*), se comporta em uma possível interação com a ciclo-oxigenase 2 (COX-2) inibindo-a. Para o presente estudo foi utilizados alguns métodos, como o docking molecular na proteína 4ph9 obtida através do banco de dados de proteínas (PDB) que se trata do ibuprofeno (IBP) que é um fármaco já comercialmente conhecido, além de cálculos para entender a força dessas possíveis ligações. Estes estudos apresentam resultados promissor na inibição da COX-2 utilizando a EPI.

PALAVRAS-CHAVE: farmacologia; mecanismos de ação; docking molecular; química computacional; bioinformática.

COMPUTATIONAL SIMULATIONS OF MECHANISMS OF NEW DRUGS.

ABSTRACT: Most of the Anti-inflammatory ones No Esteroides (NSAIDs) found today at the market count with countless adverse reactions, therefore the search for new fármacos with that smaller problem is very big in the pharmaceutical industries. This work, it was focused in investigating as the alkaloid epiisopiloturina (EPI) that is one of the raw materials of the jaborandi (*P. microphyllus*) leaves, he/she behaves in a possible interaction with the cycle-oxygenase 2 (COX -2) inhibiting her. For the present study it was used some methods, as the molecular docking in the protein 4ph9 obtained through the database of proteins (PDB) that is treated of the ibuprofeno (IBP) that is a fármaco already commercially known, besides calculations to understand the force of those possible connections. These study present promising results in the inhibition of COX-2 using EPI.

KEYWORDS: pharmacology; action mechanism; molecular docking; computational chemistry; bioinformatics.

INTRODUÇÃO

A constante busca por novos AINEs, se da pela grande necessidade que as pessoas tem de tratar suas dores que na maioria dos casos se da a partir de processos inflamatórios. A indústria farmacêutica, sabendo disso está sempre a frente de pesquisas para tentar desenvolver tais fármacos. (KUMMER; COELHO, 2002) Porém, os AINEs são responsáveis por causar muitos efeitos adversos e colaterais, sendo de grande importância o fato de desenvolver novos fármacos visando pelo menos diminuir esses efeitos. (SOUTO et al., 2011)

O jaborandi (*P. microphyllus*) é uma planta de onde é possível extrair alguns alcalóides, sendo o de maior massa a Pilocarpina e segundo alcaloide de maior massa e utilizado neste trabalho é a

Epiisopiloturina (EPI), e acredita-se que esse alcaloide pode se tratar de um AINE não seletivo da COX, o que significa que ela pode inibir tanto a COX-1 quanto a COX-2.(VÉRAS et al., 2013)

Para este estudo, foi selecionado o PDB 4PH9 (ORLANDO; LUCIDO; MALKOWSKI, 2015). Este PDB é referente ao IBP que é medicamento inibidor da COX-2. A estrutura cristalina do IBP na COX-2 sugere que a ligação entre os dois tem como determinante as interações com a Arg120 e Tyr355. Além disso, uma ponte salina é presente entre a porção carboxilato do inibidor e o grupo guanidínio de Arg-120, o que é necessário para a inibição da COX-2 pelo IBP, e são considerados como caráter hidrofóbico. (ORLANDO; LUCIDO; MALKOWSKI, 2015)

A estrutura molecular da EPI não tem semelhança nenhuma com a do IBP, além de ser significativamente maior, por isso é de extrema importância a realização do docking molecular para analisar e saber como podem acontecer e quais são os tipos das possíveis interações entre a EPI e a COX-2 na estrutura da proteína toda deixando-a livre para se ligar da melhor forma, comparando os resultados com o IBP. É necessário também a realização de alguns cálculos para saber a força necessária para romper a ligação da EPI na proteína e assim descobrir a sua afinidade, pois se a ligação se romper facilmente, significa que essa interação não é muito interessante para atuar como um bom AINE.

MATERIAL E MÉTODOS

As sínteses de novos fármacos demanda um custo muito grande, por isso, o uso do docking molecular é uma técnica muito favorável nessa área, pois através dela é possível saber quais os tipos de interações que podem ocorrer com os aminoácidos, diminuindo assim os gastos.

Neste estudo foram utilizados alguns *softwares livres*: Autodock Tools(MORRIS et al., 2009), Autodock Vina(TROTT; OLSON, 2009), Chimera(PETTERSEN et al., 2004), Pymol(SCHRÖDINGER, LLC, 2015), GROMACS. No primeiro passo foi removido o lado B da estrutura da COX-2, pois trabalhamos com apenas um dos lados, também foram removidos os ligantes indejáveis além da água, tudo isso através do Pymol. Após essa fase, com o Autodock Tools, foi acrescentado os hidrogênios na COX-2 e na EPI, e através do mesmo, foi possível selecionar o campo que seria feito o docking, ou seja, a estrutura por completo. Através do Vina se teve a execução do docking. (MORRIS et al., 2009)(TROTT; OLSON, 2009). A obtenção de medidas como, distâncias, ângulos, áreas de superfície, volume e as visualizações dos resultados obtidos por completo, foi feito através do software Chimera. A visualização e comparação do resultados obtidos, também foram feitas com o Pymol. O Gromacs se trata de um pacote computacional utilizado para executar dinâmicas moleculares, ou seja, simular as equações newtonianas de movimento de partículas (VITAL DE OLIVEIRA, O., 2014).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O PDB 4PH9 referente à cristalização do IBP e têm interações hidrofílicas com a ARG 121.A e com TYR 356.A. Este estudo não foi focado nos bolsões encontrados que poderiam ser o acesso da EPI para interagir com a cox-2, mas sim em docking realizado na proteína toda. Sendo assim foi possível observar que a molécula EPI tem pelo menos 4 possibilidades viáveis de se alojar de alguma maneira no mesmo local do IBP ou muito próximo a ele como podemos observar na Figura 1.

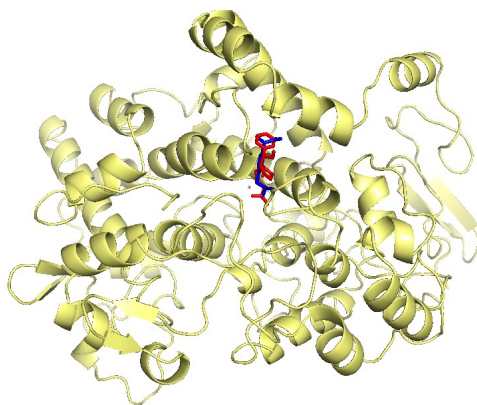


Figura 1: representação da molécula EPI (vermelho) no sítio de ligação da proteína COX-2 juntamente com a molécula IBP (azul).

Para saber a afinidade e a força necessária das interações entre a COX-2 e a EPI, está em andamento as simulações através do Gromacs com o IBP e também com a EPI para depois serem comparadas.

CONCLUSÕES

Foi analisada a molécula do IBP dentro do sítio de ligação da proteína 4PH9 encontradas no PDB e comparado com a molécula EPI e sua possível interação na proteína. Para tal pesquisa foram utilizados alguns softwares de química computacional. Os resultados preliminares aqui apresentados indicam uma possível conformação, bem como interações, da EPI, sugerindo ligações de Hidrogênio como as principais interações com o sítio de inibição da COX-2.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o tempo computacional providenciado pelo CENAPAD/Unicamp e SICC/IFSP.

REFERÊNCIAS

- ALBERTO MALVEZZI. **Modelos de Virtual screening de Inibidores da Cruzaína: Desenvolvimento e Validação Experimental**. [s.l.] Universidade de São Paulo, 2008.
- DUGGAN, K. C. et al. Molecular Basis for Cyclooxygenase Inhibition by the Non-steroidal Anti-inflammatory Drug Naproxen. **Journal of Biological Chemistry**, v. 285, n. 45, p. 34950–34959, 5 nov. 2010.
- KUMMER, C. L.; COELHO, T. C. R. B. No Title Anti-inflamatórios Não esteróides inibidores da Ciclooxygenase-2 (COX-2): Aspectos Atuais. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 52, n. 4, 2002.
- MORRIS, G. M. et al. AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. **Journal of computational chemistry**, v. 30, n. 16, p. 2785–2791, dez. 2009.
- ORLANDO, B. J.; LUCIDO, M. J.; MALKOWSKI, M. G. The structure of ibuprofen bound to cyclooxygenase-2. **Journal of Structural Biology**, v. 189, n. 1, p. 62–66, jan. 2015.
- PETTERSEN, E. F. et al. UCSF Chimera?A visualization system for exploratory research and analysis. **Journal of Computational Chemistry**, v. 25, n. 13, p. 1605–1612, out. 2004.
- SCHRÖDINGER, LLC. **The {PyMOL} Molecular Graphics System, Version~1.8**. [s.l.: s.n.].
- SOUTO, A. L. et al. Anti-Inflammatory Activity of Alkaloids: An Update from 2000 to 2010. **Molecules**, v. 16, n. 12, p. 8515–8534, 11 out. 2011.
- TROTT, O.; OLSON, A. J. AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. **Journal of Computational Chemistry**, p. NA-NA, 2009.
- VÉRAS, L. M. C. et al. Industrial Scale Isolation, Structural and Spectroscopic Characterization of Epiisopiloturine from *Pilocarpus microphyllus* Stapf Leaves: A Promising Alkaloid against Schistosomiasis. **PLoS ONE**, v. 8, n. 6, p. e66702(1-11), 26 jun. 2013.
- VITAL DE OLIVEIRA, O. (2014). **Molecular Dynamics and Metadynamics Simulations of the Cellulase Cel48F**. *Enzyme Research*, 2014, 692738. <http://doi.org/10.1155/2014/692738>