



# INCORPORAÇÃO DA FLEXIBILIDADE E DINÂMICA DE RECEPTORES MACROMOLECULARES EM SIMULAÇÕES DE DOCAGEM MOLECULAR UTILIZANDO A ENZIMA CITOCROMO P450 2E1 (CYP2E1) COMO MODELO

Nelson Lowenhaupt Junior<sup>1\*</sup>, Luiz Andre Baptista<sup>2</sup>, Rúbia Raubach Trespach<sup>1</sup>, Evelin F. Sabini<sup>1</sup>, Hermes Luís Neubauer de Amorim<sup>1</sup>.

\*nelson@ulbra.edu.br

<sup>1</sup>Universidade Luterana do Brasil – Campus Canoas

<sup>2</sup>Universidade Federal do Rio Grande do Sul

## Introdução e Objetivos

Análises computacionais (*in silico*) de sistemas bioquímicos atualmente se mostram importantes no melhor entendimento de funções biológicas e como ferramenta no desenvolvimento de novas drogas de interesse terapêutico com a vantagem de uma melhor avaliação das propriedades ADMETox (Absorção, Distribuição, Metabolização, Excreção e Toxicidade) para a molécula em desenvolvimento. Além de possuir algumas vantagens, quando comparada aos métodos tradicionais usados no estudo de propriedades farmacológicas e toxicológicas de compostos bioativos, os métodos computacionais, apresentam a vantagem de exigirem menores tempo e custo financeiro, além de possuir, em muitos casos, capacidade preditiva.

O objetivo deste trabalho é demonstrar a aplicação de métodos *in silico* (bioinformática estrutural e simulação computacional) no estudo da interação de ligantes com isoformas da enzima CYP2E1, incorporando estratégias como o "docking on the fly" e cálculos de energia livre de interação. Espera-se que os resultados obtidos possam contribuir para o estabelecimento de metodologias eficientes para a incorporação da flexibilidade e dinâmica do receptor em simulações de docagem molecular.

## Metodologia

Para a construção dos modelos protéicos foi utilizada como molde a estrutura obtida por cristalografia de raio-x do complexo CYP2E1 com o inibidor pilocarpina, depositado no Protein Data Bank sob o código 3T3Z (DEVORE et al,2012). Após a obtenção do modelo foi

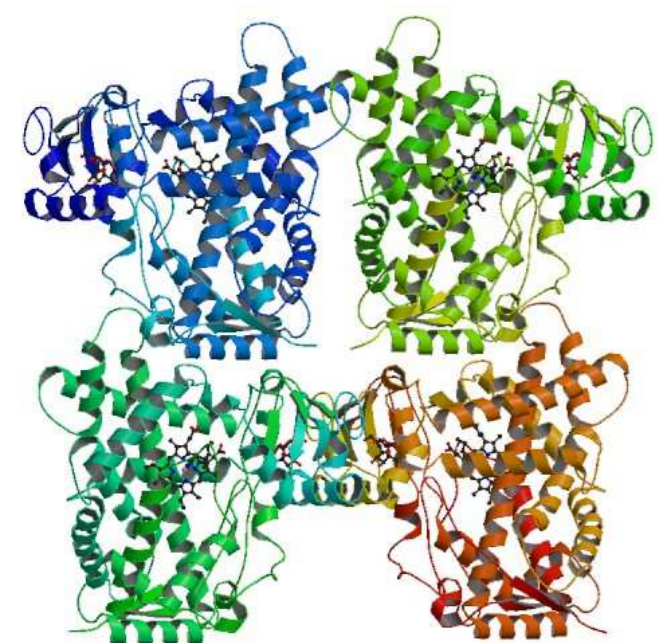


Fig 1. Representação da enzima gerada no Protein Data Bank

necessário adicionar os hidrogênios à estrutura do grupo heme, trabalho esse que foi realizado através da modelagem da molécula com o software ArgusLab, e adicionar o fração C-terminal da enzima tarefa realizada com o software Swiss-Pdb Viewer 4.1.0. Depois de preparada, foi selecionada a cadeia A da enzima, somente com o grupo heme sem ligante, para as simulações de dinâmica molecular. Para assim poder avaliar a estabilidade do sistema antes de o prosseguir para a

docagem propriamente dita. As simulações estão sendo realizadas em triplicata utilizando pacote de programas GROMACS (VAN DER SPOEL et al, 2010), com o campo de forças CHARMM (BROOKS et al, 1983) em uma caixa cúbica e como solvente água, tipo (SPC) (MARK et al, 2001). No início correspondente ao primeiro 1ns de simulação foram realizados ajustes de forma constante e gradual na temperatura do sistema indo de 27K até 310K temperatura que não sofreu mais alterações, em pressão constante de 1atm. No momento as simulações estão sendo realizadas em blocos de 1ns cada um e monitoradas utilizando gráficos gerados pelo software Grace e imagens geradas pelo software VMD afim de observar o comportamento do sistema após 10ns de simulação. Uma vez confirmada a estabilidade do sistema, os passos a cima serão repetidos na presença do ligante.

## Resultados Parciais

Embora a pesquisa ainda se encontre em estágio preliminar, com apenas metade do tempo simulado em relação ao tempo planejados para a primeira etapa. O sistema simulado tem agido da forma esperada, mostrando aparente estabilidade e boas condições para a análise dos dados coletados e início da próxima etapa, onde será realizada a simulações com o complexo Enzima + ligante.

## Agradecimentos



### PRINCIPAIS REFERÊNCIAS:

- ANDRUSIER, N., MASHIACH, E., NUSSINOV, R. and WOLFSON, H. J. Principles of flexible protein-protein docking. *Proteins*, v. 73, p. 271-289, 2008.  
GUEX, N., PEITSCH, M.C. SWISS-MODEL and the Swiss-PdbViewer: An environment for comparative protein modelling. *Electrophoresis*, v. 18, p. 2714-2723, 1997.  
NAMBA, A. M., DA SILVA, V. B., DA SILVA, C. H. T. P. Dinâmica molecular: teoria e aplicações em planejamento de fármacos. *Ecl. Quim.*, v. 33, p. 13-24, 2008.  
KEMP, C.A., MARECHAL, J.D., SUTCLIFFE, M.J. Progress in cytochrome P450 active site modeling. *Arch Biochem Biophys*, v. 15, p. 361-8, 2004.  
PORUBSKY, P.R., MENEELY, K.M., SCOTT, E.E. Structures of human cytochrome P-450 2E1. Insights into the binding of inhibitors and both small molecular weight and fatty acid substrates. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*, v. 283, p. 3369-33707, 2008.  
THOMPSON, M.A. Planaria Software LLC, Seattle, WA. <http://www.arguslab.com>. Acesso em: 01/08/2013.  
VAN DER SPOEL, D., ET AL. Gromacs User Manual version 3.3. NIJENBORGH 4, 9747AG GRONINGEN, THE NETHERLANDS, 2005. INTERNET: [www.gromacs.org](http://www.gromacs.org).  
Humphrey, W., Dalke, A. and Schuttlen, K., "VMD - Visual Molecular Dynamics", *J. Molec. Graphics*, 1996, vol. 14, pp. 33-38.