Estudo de estrutura eletrônica da interação de inibidores da proteína Tirosina Quinase Abl-Bcr na forma mutada frente a forma selvagem.

*Washington A. Pereira¹ (PG), Érica C. M. Nascimento² (PQ), João B. L. Martins¹ (PQ).

was.a.pra@gmail.com

¹Universidade de Brasília, Laboratório de Química computacional, IQ, CP 4478, Brasília-DF, Brasil.

²Departamento de Química Física y Analítica, Universitat Jaume I, Castellón, Espanha.

RESUMO

As proteínas quinases constituem uma das maiores famílias de proteínas nos eucariotos e são as principais responsáveis por meios de comunicação intracelular, resultando no controle celular e na regulação dos sinais de transdução[1]. O mecanismo regulador das quinases inclui vários fenômenos, que abrange desde propriedades químicas e estruturais até o controle transcricional[2]. Devido a sua atividade, as quinases são proteínas que estão envolvidas na origem de várias doenças, entre elas a Leucemia e seus subtipos. Os estudos de estrutura eletrônica da tirosina quinase Bcr-Abl e de quatro fármacos inibidores desta proteína, com métodos ONIOM e Dinâmica Molecular, podem auxiliar para uma melhor compreensão do mecanismo de ação desta proteína[3]. Essas ferramentas computacionais têm se mostrado úteis para o estudo de sistemas macromoleculares como proteínas e ligantes, sendo possível comparar as diferentes mutações e diferentes inibidores, além de apontar características inibitórias para uma eficiente inibição dos alvos biológicos[4]. Neste trabalho serão apresentados alguns aspectos da interação do inibidor da tirosina quinase Bcr-Abl com o fármaco.

Palavras-chave: Tirosina Quinase, Inibidores, estrutura eletrônica, ONIOM, DFT

A leucemia mieloide crônica (LMC) é um tipo de câncer não hereditário que se desenvolve na medula óssea com ocorrência mais frequente em adultos na faixa etária dos 50 anos (apenas 4% dos pacientes são crianças). A LMC se distingue dos outros tipos de leucemia pela presença de uma anormalidade genética nos glóbulos brancos, denominada cromossomo Philadelphia (Ph+). Estudos mostraram que, em pacientes portadores de LMC, existe uma translocação (fusão de uma parte de um cromossomo em outro cromossomo) entre os cromossomos 9 e 22, caracterizando assim a leucemia mieloide crônica[5].

O tratamento da doença na fase crônica é feito por fármacos denominados de inibidores da tirosina quinase (TKI). Esses inibidores se ligam ao sítio ativo da proteína, bloqueando o acesso do substrato natural ao sítio catalítico da proteína, impedindo a fosforização da tirosina quinase. Entretanto, devido ao grande número de mutações possíveis no sítio da proteína, esses inibidores quase sempre perdem seu poder inibitório e a doença avança de fase[6].

Uma das dificuldades em se trabalhar com sistemas biológicos é o grande número de átomos e variáveis envolvidas no problema. Mesmo com o avanço da capacidade computacional, estudos de estrutura eletrônica mais acurados têm elevado custo computacional. Uma alternativa a ser considerada é o uso de métodos híbridos como o *QM/MM*. Nesta metodologia o sistema pode ser dividido em diferentes partes (camadas). Ao dividirmos o sistema receptor-ligante em camadas, podemos tratar cada uma destas camadas com diferentes níveis de cálculos com maior ou menor rigor computacional[7].

O procedimento utilizado foi escolher as proteínas no banco de dados de estruturas, *Protein Data Bank* (PDB), para busca sobre os principais fármacos. Foi utilizado o programa docking Auto Docking Vina, para mapear os aminoácidos que participam direta ou indiretamente do processo inibitório e também determinar qual tipo de interação que cada resíduo faz com a proteína. Aplicando o método *ONIOM* (camada alta usando método PM6 e na camada baixa AMBER), foram determinadas a energia de interação entre os aminoácidos o inibidor. Buscando uma maior precisão a partir do ligante e uma mutação em específico (T315I) o número de aminoácidos presentes na camada alta (nível de cálculo PM6) foi sendo ampliado até atingir a região da proteína onde esperado que, os aminoácidos dessa região não tenham participação significativa no processo de interação.

Figura 1. Representação do sistema proteína-ligante estudado. ONIOM: (a) Complexo tirosina quinase-Ponatinibe, considerando distância de 4 Å. (b) Complexa tirosina quinase Ponatinibe, considerando distância de 12 Å

Os cálculos foram realizados com o software Gaussian09, utilizando a ferramenta Tao Toolkit e Ambertools. O campo de força escolhido para o cálculo foi o **AMBER**. Os ligantes estão sendo submetidos ao método **DFT B3LYP**.

O método **ONIOM** tem se mostrado um método adequado para tratar sistemas biológicos, tornando o custo computacional e tempo para cálculos adequados e possibilitando trabalhar as regiões das proteínas mais importantes, com métodos mais sofisticados e de custo computacional maior, com maior precisão e demais áreas com métodos com menor rigor computacional. As diferentes técnicas estão fornecendo resultados importantes, para analisar de forma mais profunda a proteína e seus ligantes.

Referencias.

- [1] Lopes, Nei R., and M. T. Abreu. Inibidores de tirosino quinase na leucemia mielóide crônica. *Rev Bras Hematol Hemoter*, 31 (2009) 449-53.
- [2] Silva, Bárbara V., et al. Proteínas quinases: características estruturais e inibidores químicos. *Quim. Nova*, 32 (2009) 453-462.
- [3] Buchdunger, Elisabeth, et al. Abl protein-tyrosine kinase inhibitor STI571 inhibits in vitro signal transduction mediated by c-kit and platelet-derived growth factor receptors. *J. Pharm. Exp. Therap.* 295 (2000) 139-145.
- [4] Lugo, Tracy G., et al. Tyrosine kinase activity and transformation potency of bcr-abl oncogene products. *Science*, 247 (1990) 1079-1082.
- [5] Capece, Luciana, et al. Complete reaction mechanism of indoleamine 2, 3-dioxygenase as revealed by QM/MM simulations. *J. Phys. Chem. B*, 116 (2012) 1401-1413.
- [6] Dittrich, B.; Pfitzenreuter, S.; Hübschle, C. B. On QM/MM and MO/MO cluster calculations of all-atom anisotropic displacement parameters for molecules in crystal structures. *Acta Crystall. A*: 68 (2012) 110-116,.
- [7] Vreven, Thom, and Keiji Morokuma. Hybrid methods: Oniom (qm: mm) and qm/mm. *Annual Rep. Comp. Chem.* 2 (2006): 35-51.