



SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA XXVIII SIC

paz no plural



Evento	Salão UFRGS 2016: SIC - XXVIII SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2016
Local	Campus do Vale - UFRGS
Título	Análise in silico da atividade do iridóide plumieridina nos fungos <i>Cryptococcus neoformans</i> e <i>Cryptococcus gattii</i>
Autor	RENATO KULAKOWSKI CORÁ
Orientador	MARILENE HENNING VAINSTEIN

Título do trabalho: Análise *in silico* da atividade do iridóide plumieridina nos fungos *Cryptococcus neoformans* e *Cryptococcus gattii*

Autor: Renato Kulakowski Corá

Orientadora: Marilene Henning Vainstein

Instituição: UFRGS

Cryptococcus neoformans e *Cryptococcus gattii* são leveduras basidiomicéticas encapsuladas, e os agentes etiológicos da criptococose. O tratamento está geralmente associado ao uso de três fármacos: a anfotericina B, o fluconazol e a flucitosina, por vários meses, em diferentes combinações, e com elevada toxicidade. Desta forma, identifica-se a necessidade do desenvolvimento de fármacos menos tóxicos e mais eficientes. Com este propósito, nosso grupo de pesquisa identificou a presença de dois iridóides com ação antifúngica no extrato de sementes de *Allamanda polyantha*, a plumieridina e o plumierideo. Relatos anteriores demonstram que a molécula do plumierideo pode ser convertida em plumieridina por hidrólise enzimática, entretanto, o seu alvo celular ainda não é conhecido. Assim, o objetivo de nosso trabalho consiste em identificar, por métodos *in silico*, possíveis proteínas alvos para a ação da plumieridina em *C. neoformans* e *C. gattii*. Para isso, a molécula da plumieridina foi submetida ao servidor *online* do PharmMapper, que prediz possíveis alvos protéicos para ligantes, baseado na análise de seus farmacóforos. Dentre os alvos preditos, foram identificadas três proteínas da rota das pirimidinas, sendo a timidilato sintase (TS), um alvo já descrito da ação da flucitosina, e a que obteve a melhor colocação entre os resultados. Desta forma realizou-se a modelagem comparativa com o programa Modeller 9.15, para TS de *C. neoformans* e *C. gattii* (a partir do molde PDBID: 2AAZ). Para a ligação TS-plumieridina, foi utilizada a técnica de *docking* molecular, com os servidores *online* PatchDock e SwissDock. Dentre as posições de interação que foram preditas por ambos servidores, os três principais conjuntos conformacionais foram selecionados e uma estrutura de cada conjunto foi utilizada para o próximo passo da análise. Em ambas espécies, a região do sítio catalítico da enzima foi selecionada, e oito simulações de dinâmica molecular foram, então, realizadas, uma para cada posição de *docking*, além de outra na ausência da plumieridina. As simulações foram realizadas com o pacote GROMACS 4.5.7 e campo de força GROMOS53a6, por 100 ns, ou até que a interação entre o ligante e o receptor cessasse. Sendo assim, apenas as simulações realizadas com a plumieridina no sítio catalítico, e as sem a plumieridina, foram estendidas até aos 100 ns. Apesar de todas se mostrarem suficientemente estáveis, havendo conservação da maior parte da estrutura secundária, pode-se observar a formação de um grampo beta (de G135 a G149) nas simulações sem a plumieridina, havendo indícios de sua formação também nas simulações feitas com o iridóide. Encontramos relatos da existência desta estrutura nas TS de alguns procariotos, mas não em eucariotos. Também observamos, na simulação de *C. neoformans*, o desenovelamento de uma região de hélice (de K107 a V113), localizada próximo a um importante ponto de interação com a plumieridina (de I100 a N104), conhecida como região ligadora de folato (RLF), essencial para a atividade enzimática. Embora as interações com a RLF se tornem mais escassas, a plumieridina passa a interagir com outra região (de S217 a N227), importante na interação com o substrato. Consequentemente a flexibilidade da RLF apresenta diferenças: em *C. gattii* há uma diminuição que se opõe ao aumento observado em *C. neoformans*, o que pode ser associado à variação no modo de interação da plumieridina, uma vez que ocorre um leve deslocamento da molécula para fora do sítio catalítico ocasionando uma interrupção da interação com duas regiões importantes (de R70 a G75 e região C-terminal), mantendo as interações com a RLF. Tendo em vista o exposto, apesar das divergências observadas no modo de interação das duas espécies com a plumieridina, observamos que em ambos os casos ela tem potencial de bloquear o sítio catalítico e impedir a ligação de cofator ou substrato, e desta forma, inviabilizar o funcionamento correto da enzima, podendo, por tanto, ser considerada um potencial inibidor.