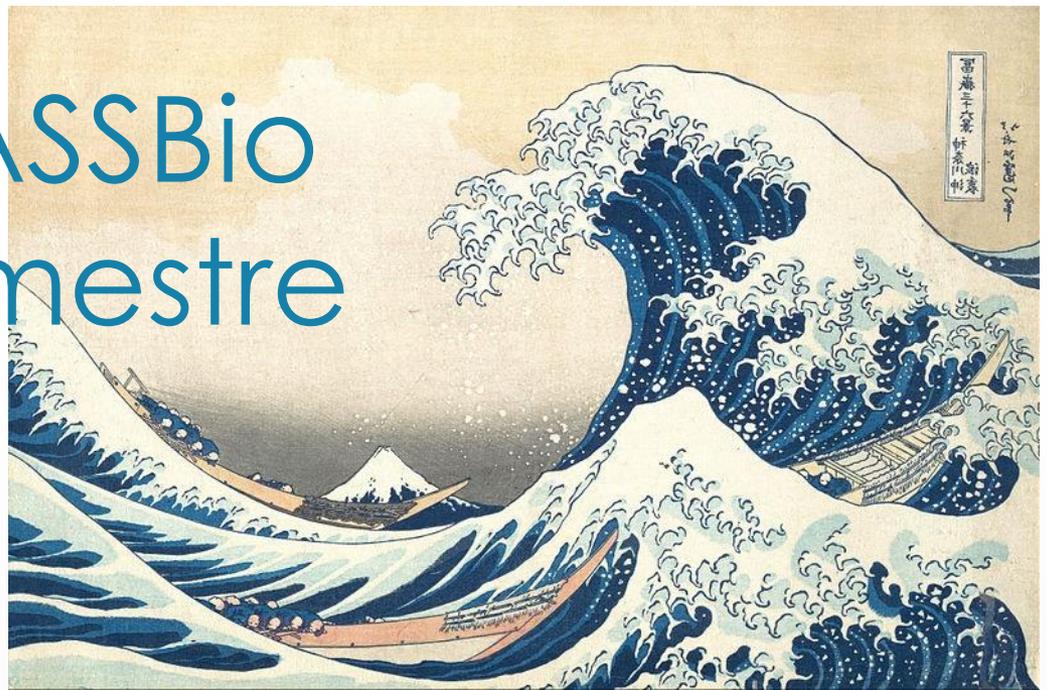


Seminário LASSBio 2020 – 1º Semestre



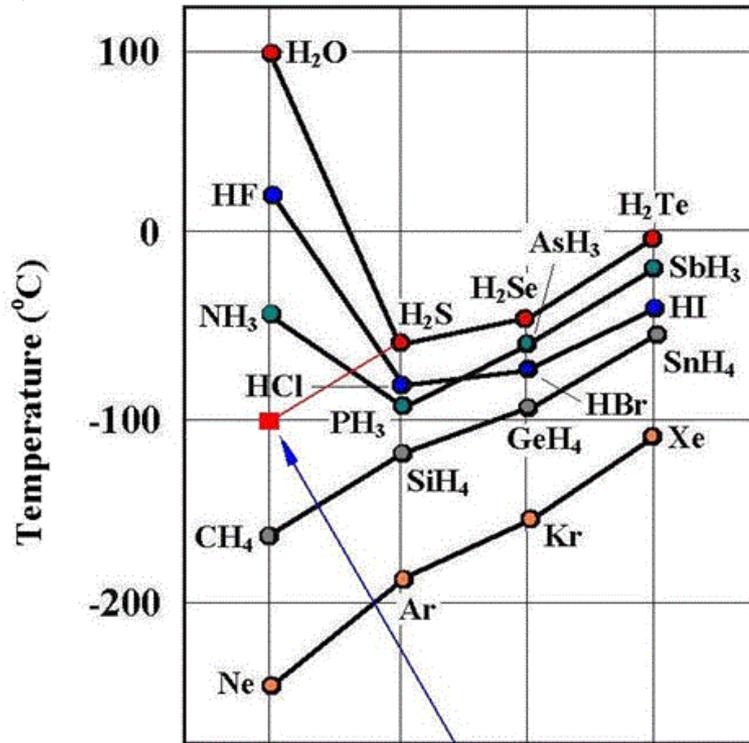
A Influência da Água na Ação de Moléculas Bioativas

Prof. Carlos Mauricio R. Sant'Anna

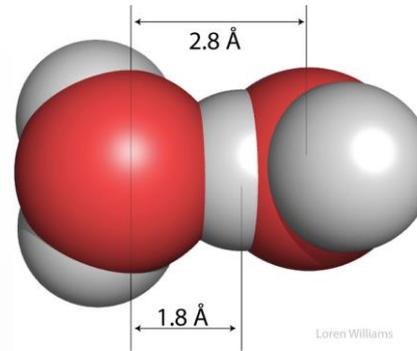
DQF – IQ – UFRRJ

LASSBIO – UFRJ

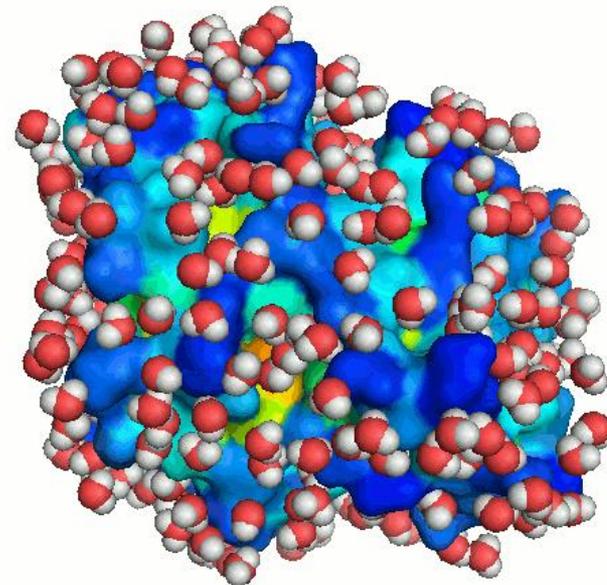
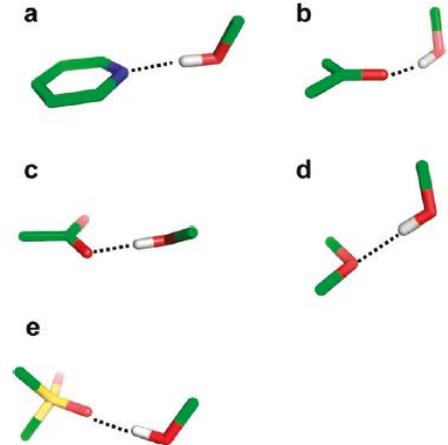
Água e Ligação de Hidrogênio



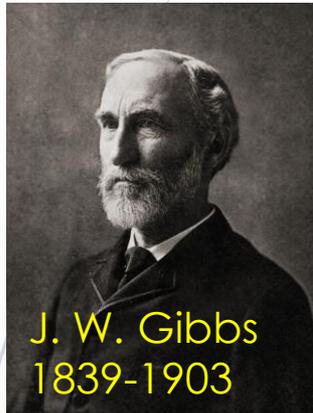
Boiling point of water without the presence of hydrogen bond



Raios de van der Waals
 H: 1,20 Å
 O: 1,52 Å



A Interação “Hidrofóbica”: Uma Interpretação Termodinâmica



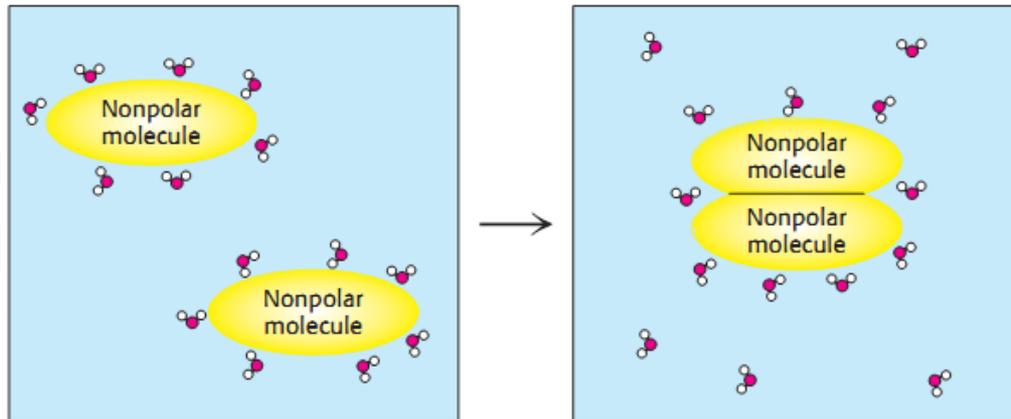
$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

$$\Delta G < 0$$

Transformação espontânea

$$\Delta G > 0$$

Transformação não espontânea



Exemplo: Dessolvatação do benzeno em água:

$$\Delta G_{\text{des}} = -14 \text{ kJ/mol}$$

$$\Delta H_{\text{des}} = +33 \text{ kJ/mol}$$

$$-T\Delta S_{\text{des}} = -47 \text{ kJ/mol}$$

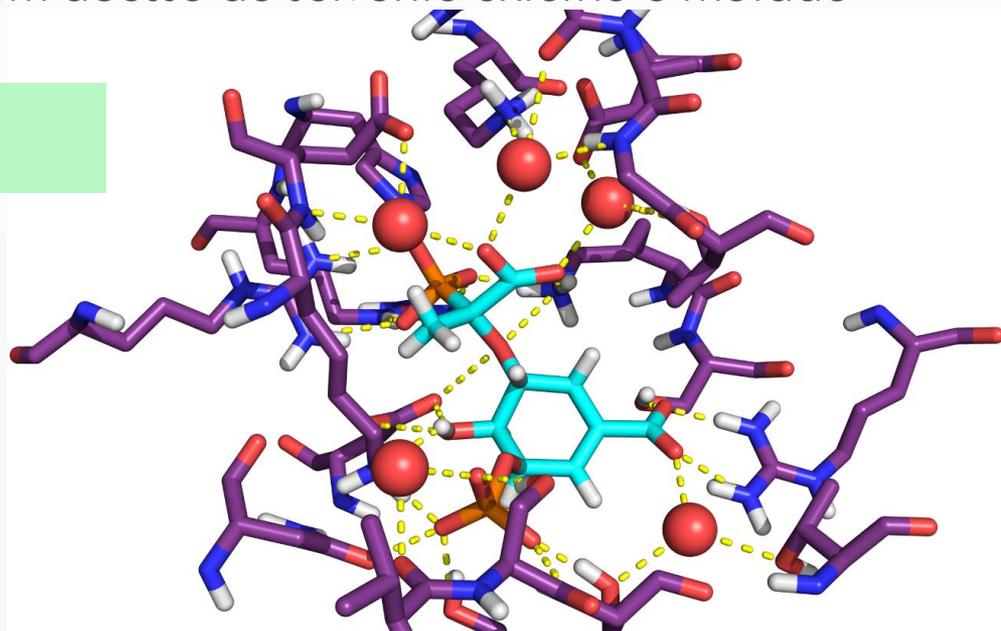
Aumento da desorganização das moléculas de água deslocadas, resultando em ΔS positivo.

Presença de Água em Estruturas Cristalográficas

- ▶ A identificação das moléculas de água em estruturas cristalográficas requer uma boa resolução ($\leq 2 \text{ \AA}$).
- ▶ Há mais de 500 estruturas no PDB com uma resolução $\leq 2 \text{ \AA}$, que contêm água, um ligante e também dados de afinidade de ligação (PDBBind, Liu *et al.*, *Bioinformatics*, 31, 405–412).
- ▶ Nele, mais de 80% dos complexos mostram pelo menos uma molécula de água envolvida na interface proteína-ligante.
- ▶ Dessas, cerca da metade tem algum acesso ao solvente externo e metade pode ser classificada como oclusa.

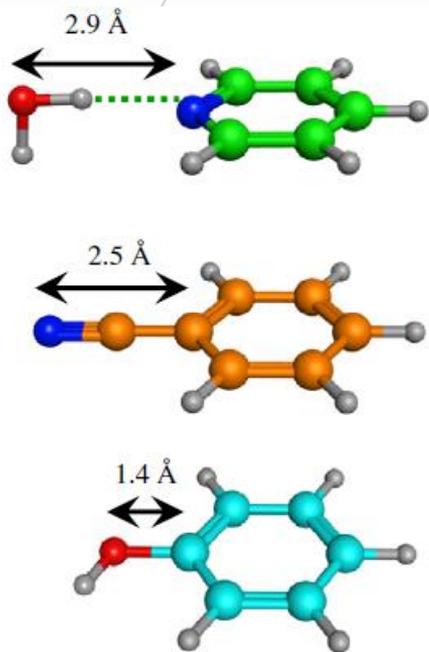
Maurer & Oostenbrink, *J. Mol. Recognit.*, 2019, 32:e2810.

Estrutura 1X8T (PDB, resolução 1,90 \AA), fosfonato análogo ao estado de transição cocristalizado com a enzima EPSP sintase de *E. coli*. (Priestman *et al.*, *Biochemistry*, 2005, **44**, 3241-3248)



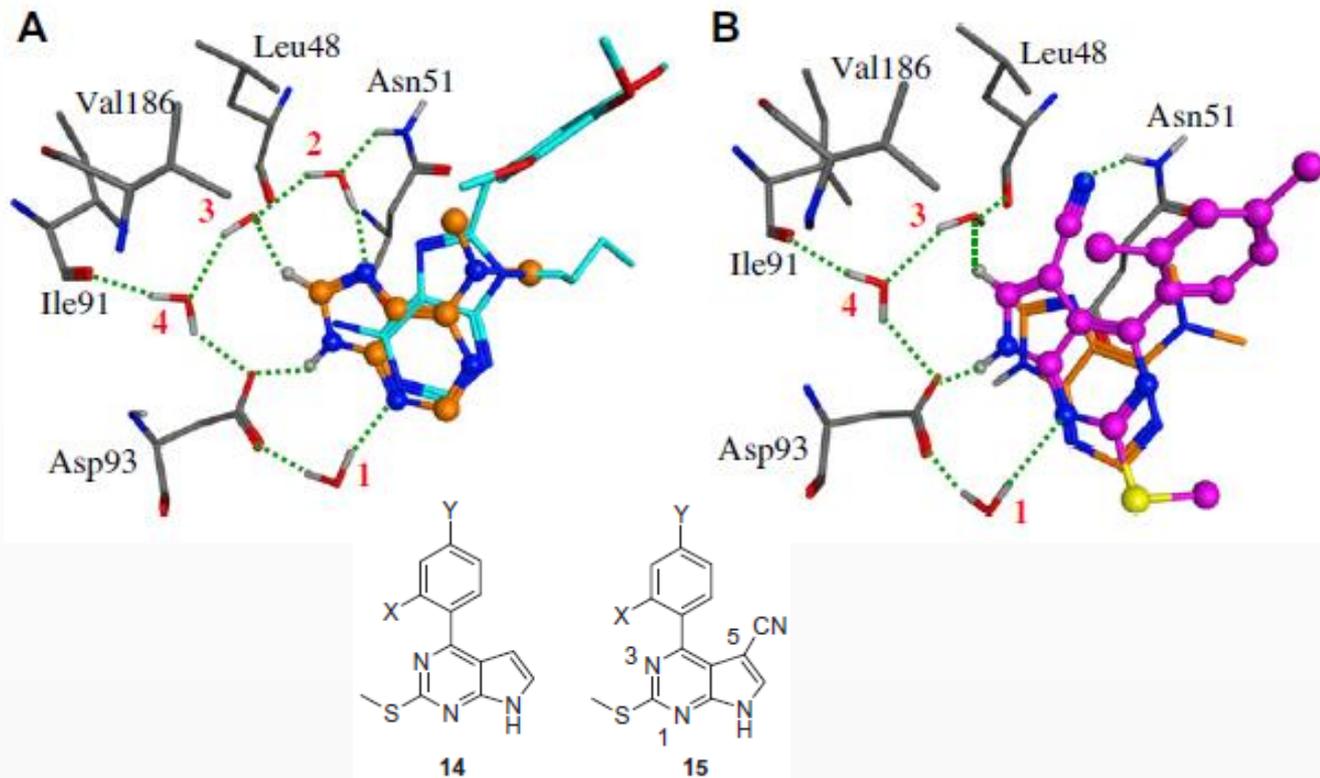
Planejamento de Ligantes: O Efeito do Deslocamento de Moléculas de Água

Inibidores 4-aryl-5-ciano-
pirrolo[2,3d]pirimidinas
da proteína de choque
térmico Hsp90



Davies et al., Bioorg. Med.
Chem. 2012, 20, 6770-6789.

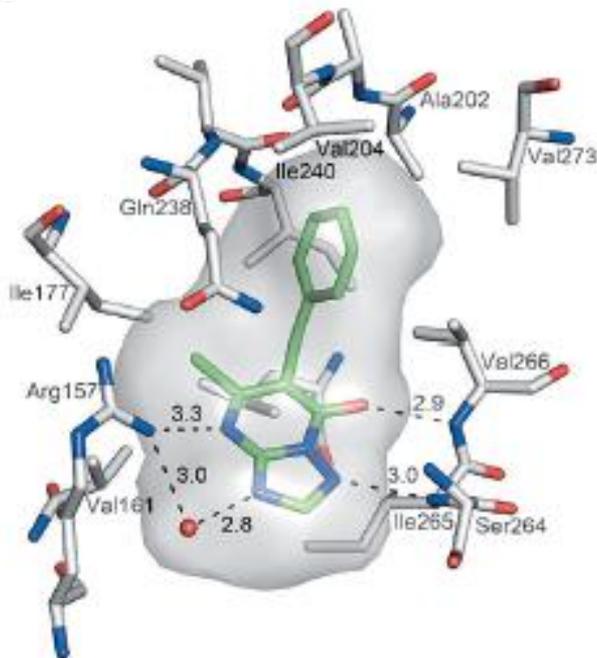
CMR Sant'Anna, 2020



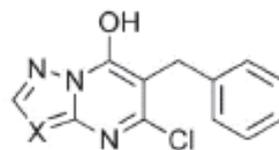
ID	X	Y	FP K_i^b (μM)	SPR K_d (μM)	ITC K_d (μM)
14a	Me	Me	>200	>100	—
14b	Me	F	>200	>100	—
14c	H	CN	>200	>100	—
15a	Me	Me	0.195	0.101	0.156
15b	Me	F	0.385	0.430	0.251
15c	H	CN	0.204	1.22	—

Planejamento de Ligantes: O Efeito do Deslocamento de Moléculas de Água

BASF: Busca de novos herbicidas da classe das triazolopirimidinas como inibidores da 3ª enzima da rota da biossíntese de isoprenóides (IspD)

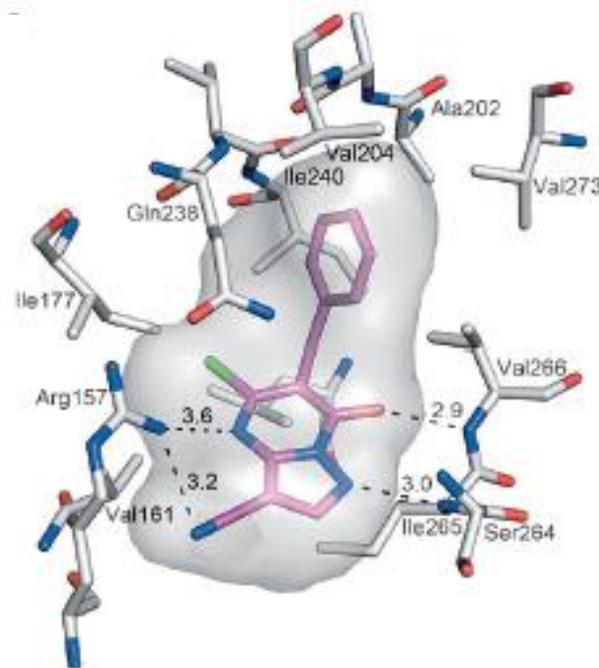


2YC3



- | | |
|--------------------------|-------------------------|
| 1 X = N | IC ₅₀ 140 nM |
| 2 X = C-COO ⁻ | IC ₅₀ 274 μM |
| 3 X = C-CN | IC ₅₀ 35 nM |

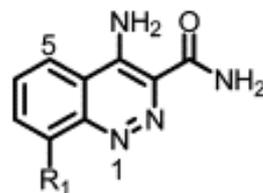
Custo energético para dessolvatar o grupo carboxilato não consegue ser compensado pelo deslocamento da molécula de água!



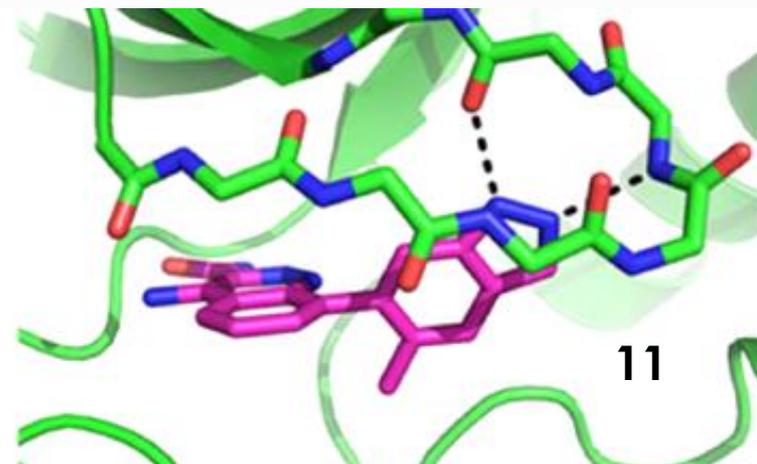
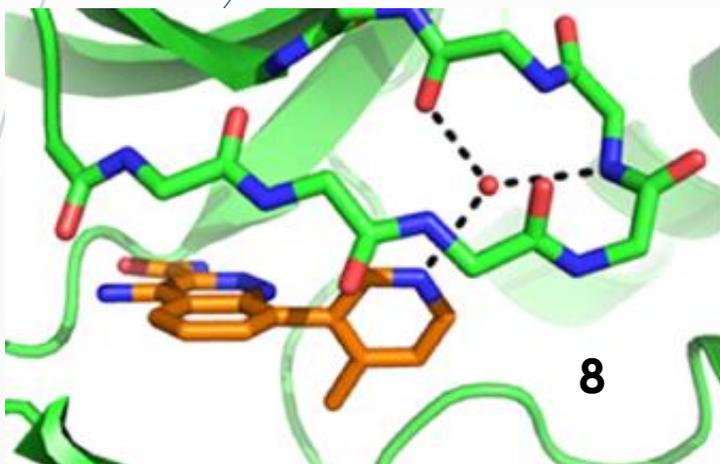
2YC5

Planejamento de Ligantes: O Efeito do Deslocamento de Moléculas de Água

4-Aminocinolina-3-carboxamidas inibidoras da tirosina-quinase de Bruton.



Compound	R ₁	Btk IC ₅₀ (nM) ^c
8		100 ± 46
11		4.0 ± 0.3



Smith *et al.*, *J. Med. Chem.* 2015, 58, 5437–5444.

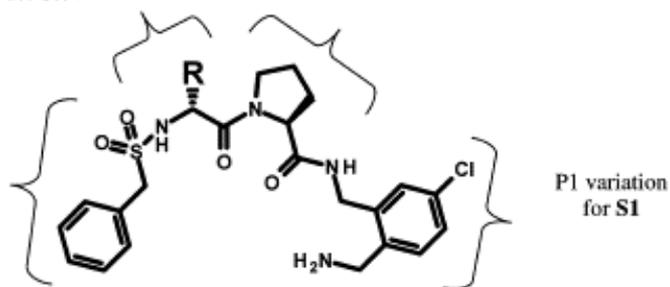
Planejamento de Ligantes: O Efeito do Deslocamento de Moléculas de Água

Inibidores da Trombina

P3 variation
for S3/4

Pro for S2

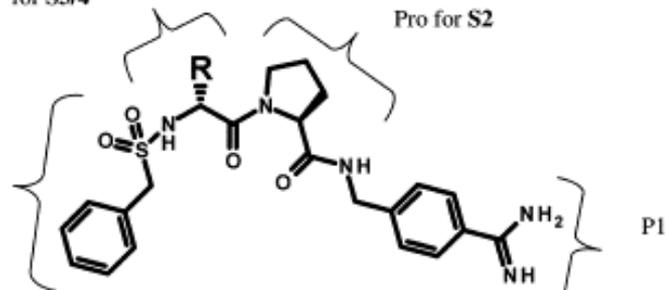
benzylsulfonyl



P3 variation
for S3/4

Pro for S2

benzylsulfonyl

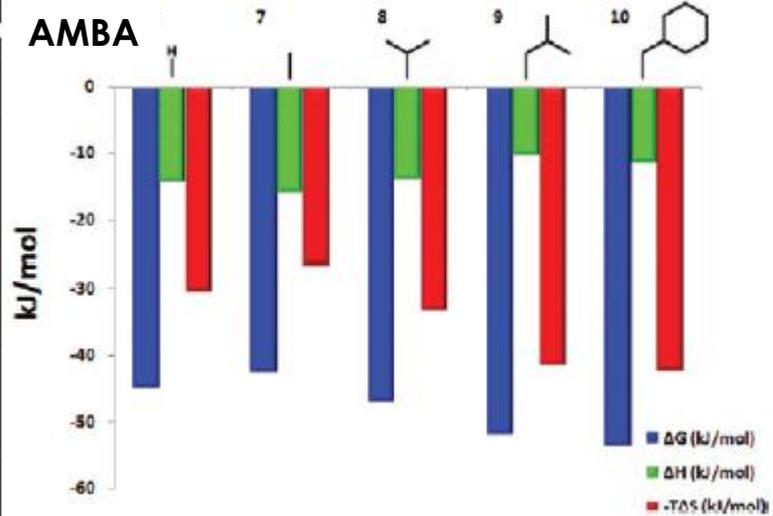
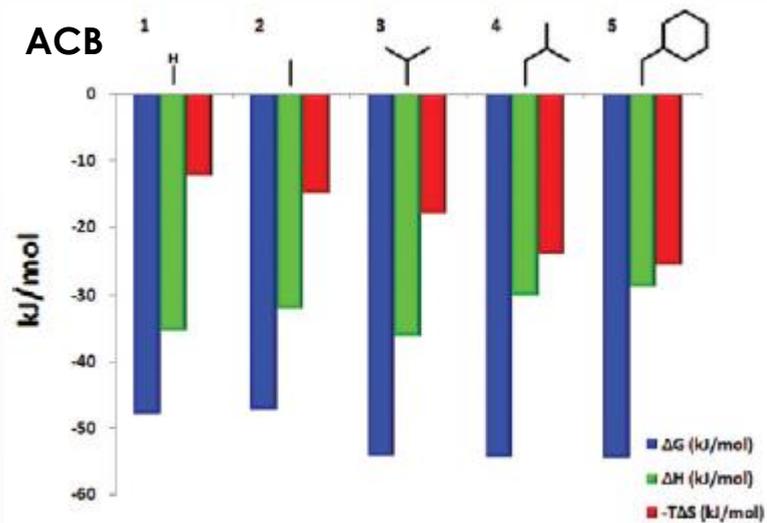
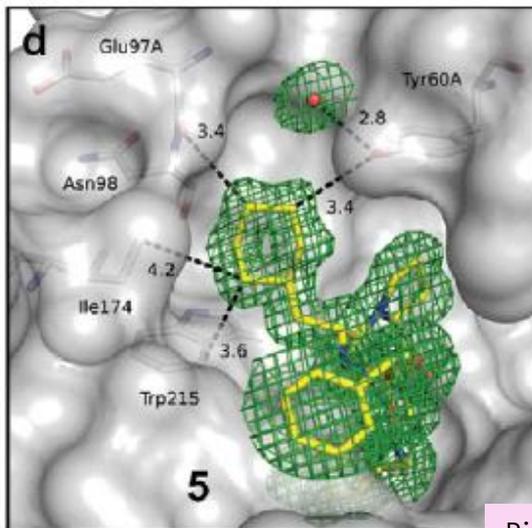
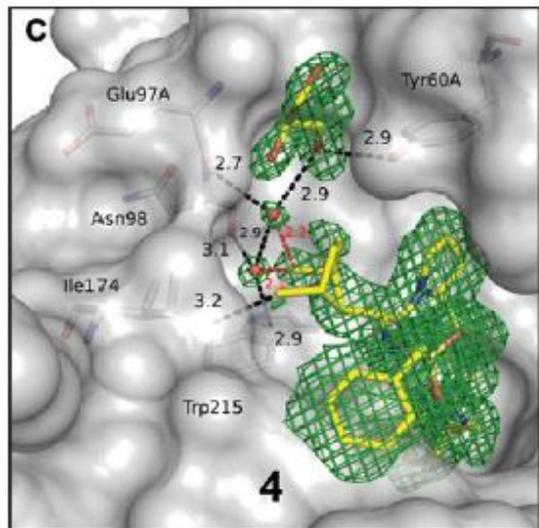
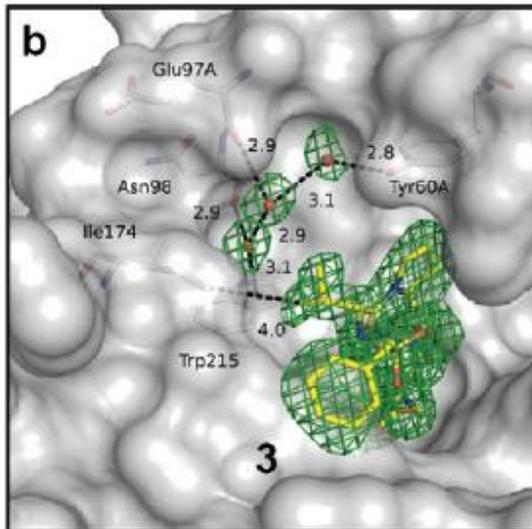
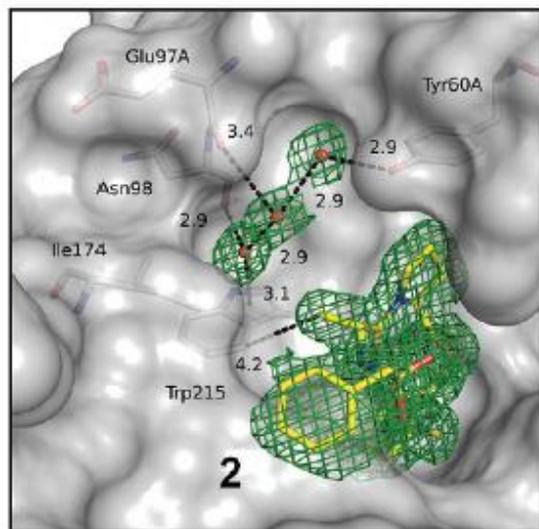


CMR Sant'Anna, 2020

Aumento de 40 vezes na potência nas séries
ACB (2-aminometil-5-cloro-benzilamidas) e
AMBA (4-amidino-benzilamidas)

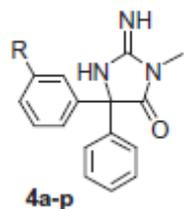
P1 substituent: ACB R:	K_i (nM) ^a	P1 substituent: AMBA R:	K_i (nM) ^a
1 H	1.5 ± 0.1	6 H	3.7 ± 0.6
2 CH ₃	2.2 ± 0.4	7 CH ₃	5.2 ± 0.8
3 	0.798 ± 0.070	8 	1.290 ± 0.347
4 	0.259 ± 0.024	9 	0.891 ± 0.115
5 	0.052 ± 0.005	10 	0.119 ± 0.010

Planejamento de Ligantes: O Efeito do Deslocamento de Moléculas de Água

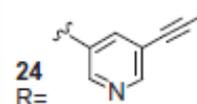
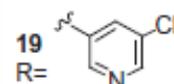
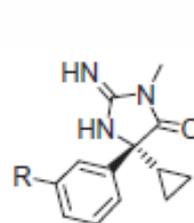
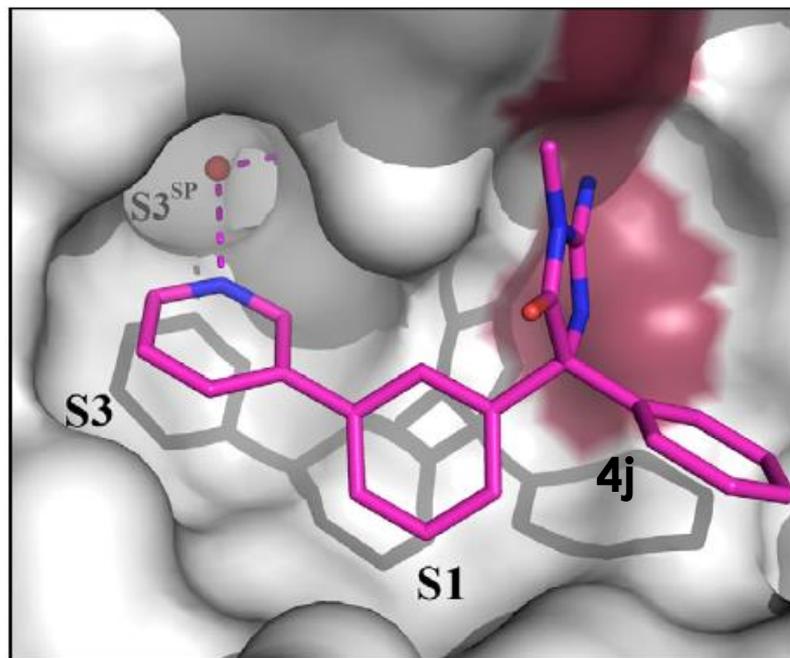


Planejamento de Ligantes: O Efeito do Deslocamento de Moléculas de Água

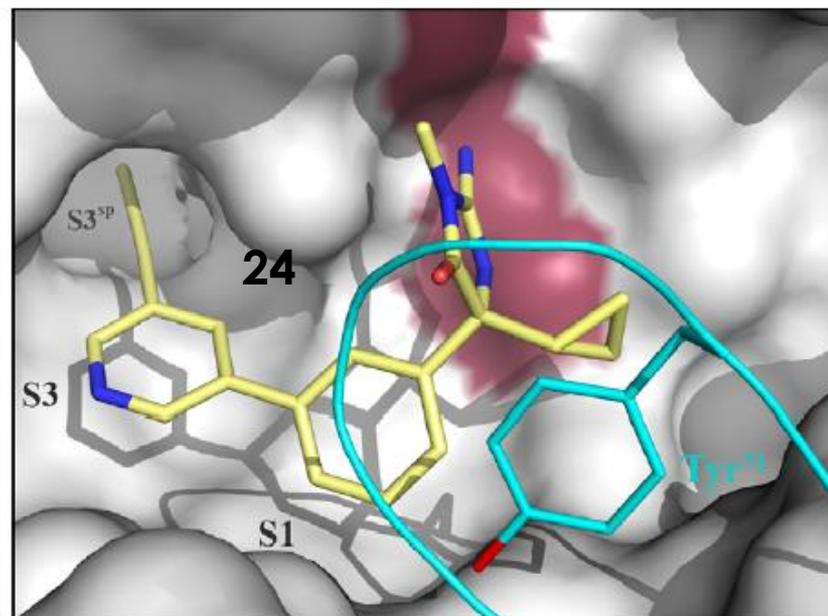
A β -secretase BACE1 é responsável pela proteólise da proteína precursora de amilóide (APP).



Compd	R	BACE1 K_i (μ M)
4i	Pyridin-2-yl	1.9
4j	Pyridin-3-yl	0.53
4k	Pyridin-4-yl	3.8



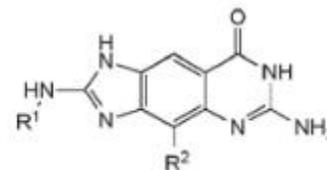
Compd	BACE1 K_i (nM)
19	21
24	5.4



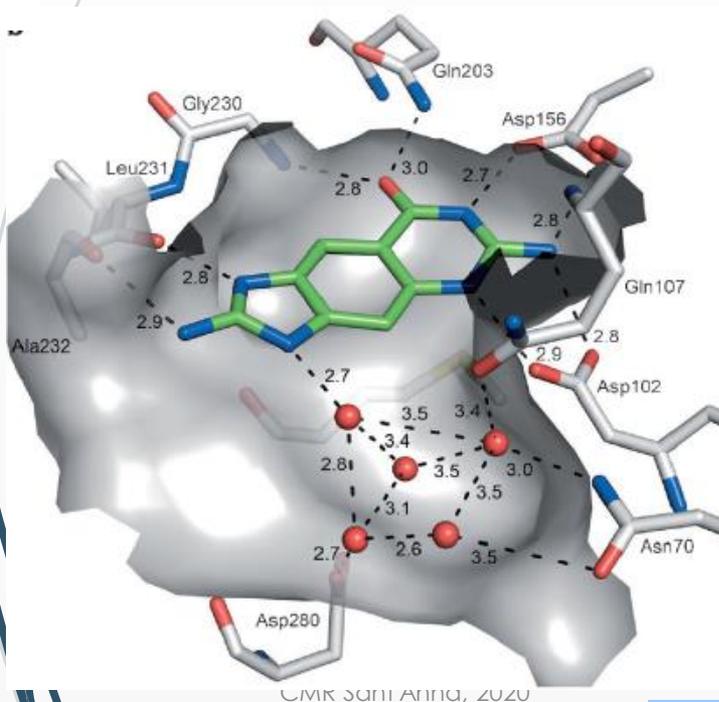
Cumming *et al.*, *Bioorg. Med. Chem.* 2012, 22, 2444–2449.

Planejamento de Ligantes: O Efeito do Deslocamento de Moléculas de Água

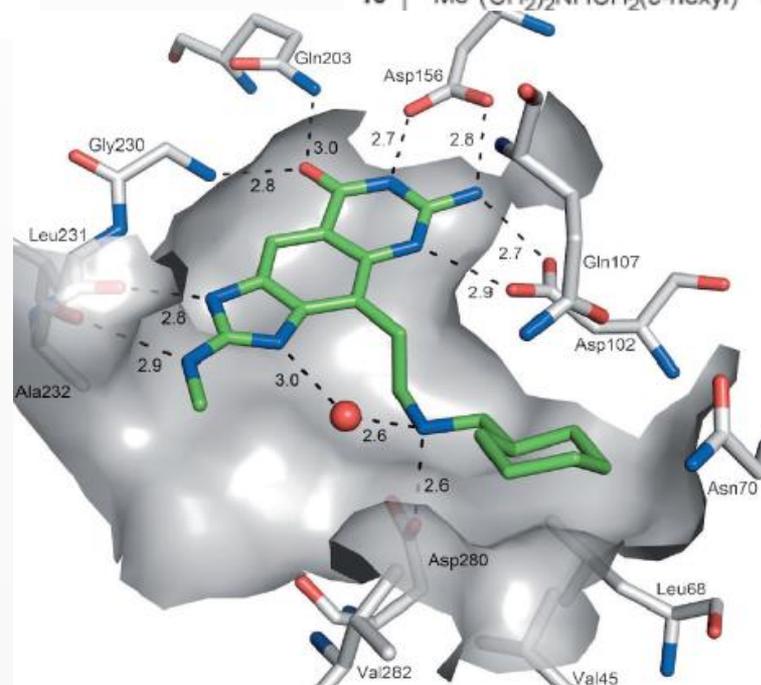
Inibidores da t-RNA-guanina transglicosilase da classe das benzoguaninas reduzem a patogenicidade de bactérias do gênero *Shigella*.



	R ¹	R ²	K _i [nM]
7	H	H	77 ± 12
8	Me	(CH ₂) ₂ NH ₂	55 ± 3
9	Me	H	58 ± 36
10	Me	(CH ₂) ₂ NHCH ₂ (c-hexyl)	4 ± 2



CMK SANTI ANITA, 2020



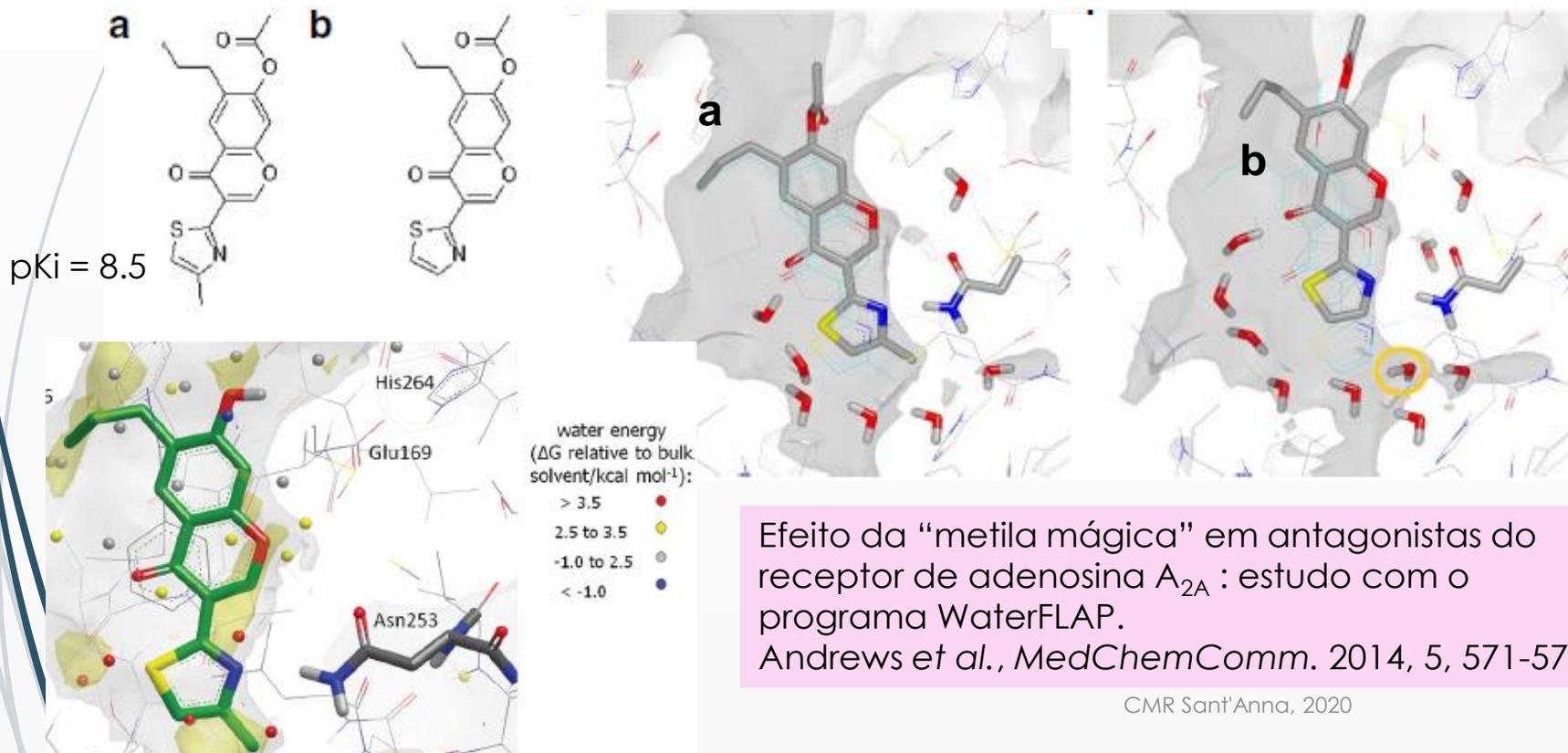
Ritschel et al., *ChemBioChem.*, 2009, 10, 716-727.

Previsão de Moléculas de Água Conservadas

Previsão de moléculas de água que são conservadas para uso em projetos de SBDD pode ser feita por alguns programas. As principais estratégias são baseadas em:

1. Dinâmica molecular (WaterMap, WaterFLAP)

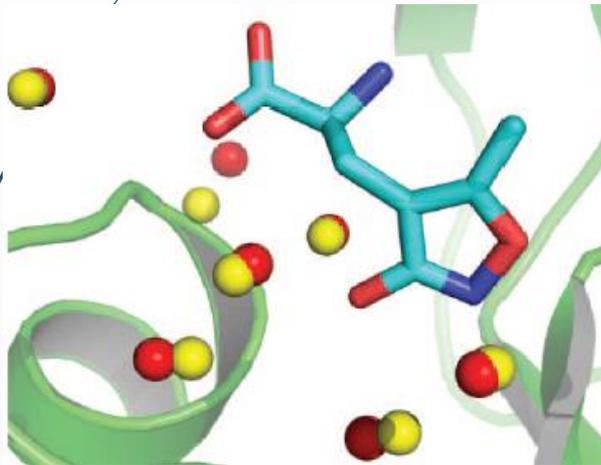
Informações sobre águas mesmo em estruturas cristalográficas cuja resolução não permite localizá-las. A principal desvantagem é que a DM é computacionalmente custosa.



Previsão de Moléculas de Água Conservadas

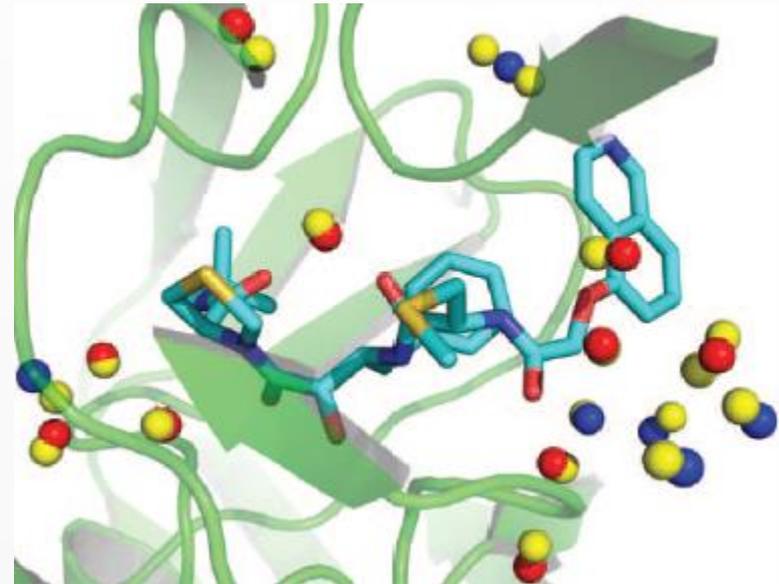
2. Pesquisa em grade (SZMAP e WaterDock)

O WaterDock foi validado usando dados de cristalografia de raios-X, difração de nêutrons e simulações de dinâmica molecular: previu corretamente 97% das moléculas de água no conjunto de teste.



WaterDock: receptor de glutamato ionotrópico GluA2 em complexo com AMPA

CMR Sant'Anna, 2020



WaterDock: HIV protease em complexo com KNI-272

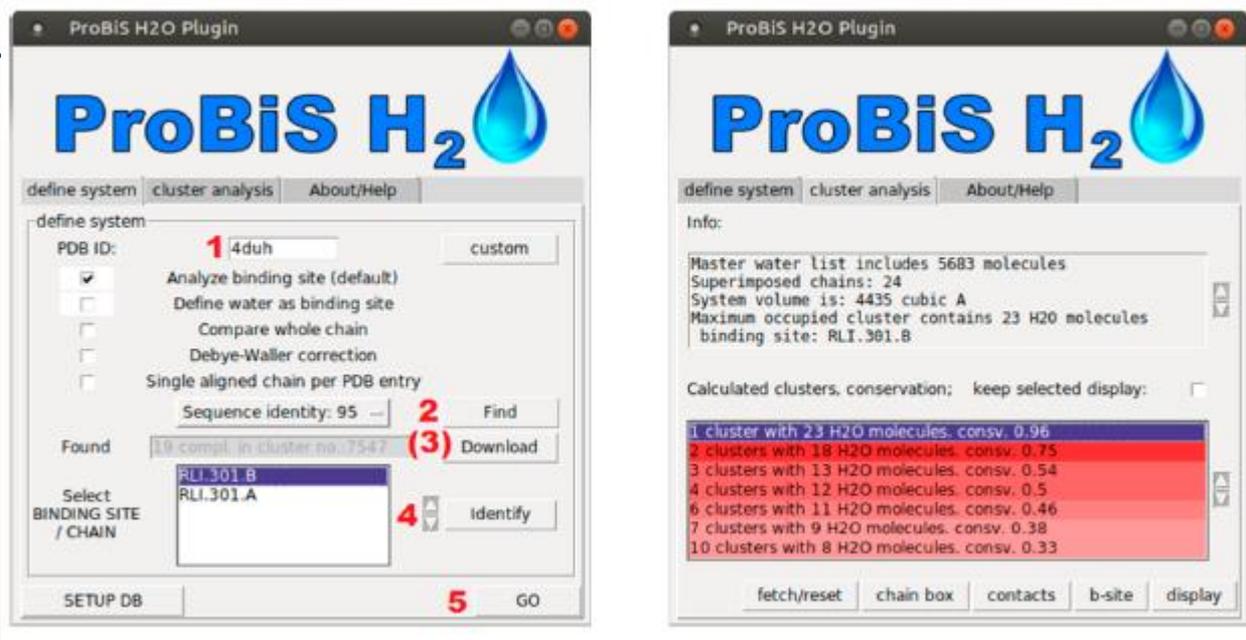
Ross et al., *PLoS One* (2012) 7, e32036.

Previsão de Moléculas de Água Conservadas

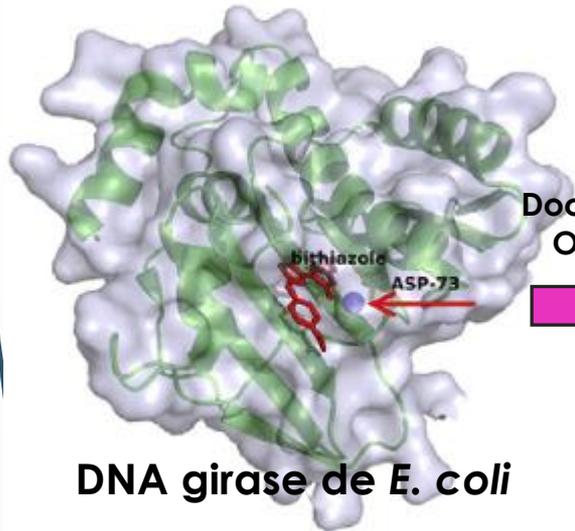
14

3. Métodos Baseados em Conhecimento

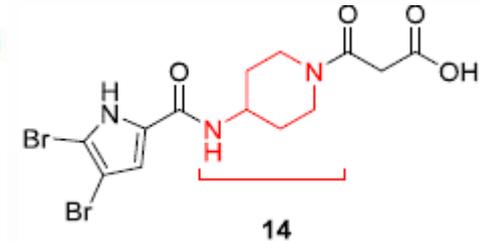
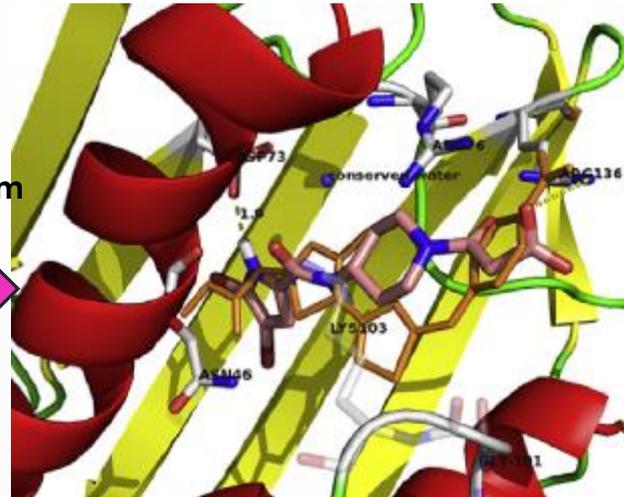
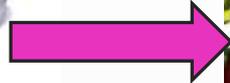
Com uma estrutura de proteína, um local de ligação ou uma molécula de água individual como consulta, o plugin para PyMOL ProBiS H₂O coleta proteínas semelhantes do PDB e executa superposições locais ou de ligação específicas da estrutura da consulta com proteínas semelhantes, usando o algoritmo ProBiS. Ele coleta as moléculas de água experimentais das proteínas semelhantes e as transpõe para a proteína de consulta.



Previsão de Moléculas de Água Conservadas



Docagem com
OEDocking



$K_i = 0,48 \mu\text{M}$

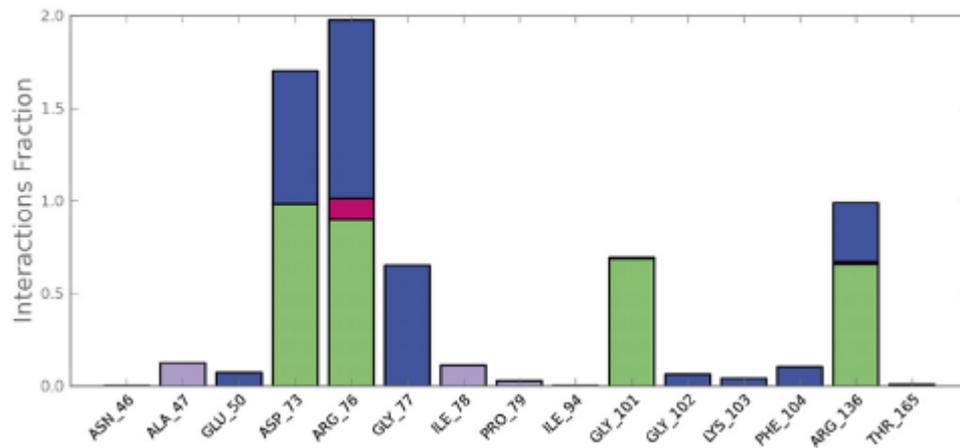


Diagrama de interação por resíduo de aminoácido. 1 indica 100% de participação em um período de 10 ns de DM.
Verde: ligação de hidrogênio
Azul: água em ponte
Magenta: interação iônica
Roxo: interação hidrofóbica

Considerações Finais

- ▶ A participação da água no planejamento de compostos bioativos vai muito além das questões óbvias de solubilidade.
- ▶ Moléculas de água ocupam sítios de interação frequentemente e seu deslocamento pode resultar em efeitos termodinâmicos favoráveis (aumento de entropia), que se traduzem em melhoras em constantes de binding.
- ▶ A identificação dessas moléculas de água em sítios de interação e quais podem trazer mais benefícios com seu deslocamento é um desafio. Diferentes métodos têm sido aplicados com essa finalidade, como a dinâmica molecular e métodos comparativos com dados estruturais disponíveis.