

11º Encontro de Química dos Alimentos

Qualidade dos alimentos: novos desafios

Bragança, 2012
16-19 Setembro

Atas

ISBN
978-972-745-141-8



Screening Virtual e Dinâmica Molecular de compostos presentes em cogumelos com potencial inibidor de BCL2

Hugo J.C. Froufe^a, Rui M.V. Abreu^{a,b}, Isabel C.F.R. Ferreira^{a,*}

^aCIMO/Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Bragança.

^bCGB-IBB/Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro.

*iferreira@ipb.pt

Palavras-chave: Apoptose; BCL2; Cogumelos; *Screening* Virtual; Dinâmica Molecular

RESUMO

A família BCL2 é constituída por proteínas envolvidas tanto na apoptose como na sobrevivência da célula. Em alguns tipos de cancro, incluindo linfomas e cancro epiteliais, a sobreexpressão de proteínas anti-apoptóticas da família da BCL2, como é o caso da proteína BCL2, é indicativo de cancro em fase avançada, com mau prognóstico e resistente a quimioterapia. Existem vários estudos que indicam que extratos de diferentes espécies de cogumelos têm a capacidade de promover o processo de apoptose em linhas celulares tumorais, mas o mecanismo de ação destes extratos ainda não é totalmente conhecido. Neste estudo, foi realizado um *screening* virtual de uma biblioteca de 40 compostos de pequena massa molecular presentes em cogumelos, utilizando como proteína alvo uma estrutura da BCL2 (PDB:2XA0) e como software de *docking* o AutoDock4. Os compostos que obtiveram energias de ligação mais baixas (<-10 kcal/mol) foram os seguintes derivados de esteróides: ergosta-4,6,8(14),22-tetraen-3-ona, lactona lucidénica, cerevisterol e ácidos ganodéricos w e x. Realizaram-se também estudos de Dinâmica Molecular para estes 5. Os valores de *RMSD* obtidos, tanto para os 5 compostos como a estrutura da BCL2, foram estáveis e baixo indicando que os modos de ligação, previstos pelo Autodock4, são provavelmente próximos da realidade.

Em conclusão, o processo de apoptose promovido por extratos de cogumelos pode estar relacionado com a inibição da BCL2 por derivados de esteróides aqui estudados. No entanto, são necessários mais estudos para comprovar esta hipótese.

1. INTRODUÇÃO

A família *B cell CLL/lymphoma-2* (BCL2) é classificada por função como proteínas anti-apoptóticas e pró-apoptóticas e a regulação das suas interações ditam a sobrevivência ou entrada em apoptose da célula. A família BCL2 encontra-se envolvida em várias doenças mas é no cancro onde é mais estudada. Em alguns tipos de cancro, incluindo linfomas e cancro epiteliais, a sobreexpressão de proteínas anti-apoptóticas da família da BCL2, como é o caso da proteína BCL2, é indicativo de cancro em fase avançada, com mau prognóstico e resistência a quimioterapia [1]. Os cogumelos são considerados uma importante fonte de compostos antitumorais [2] e existem vários

estudos que indicam que extratos de diferentes espécies têm a capacidade de promover o processo de apoptose em linhas celulares tumorais, embora o mecanismo de ação destes extratos ainda não seja totalmente conhecido [3-5]. Neste trabalho realizaram-se estudos de *Screening* Virtual e Dinâmica Molecular (DM) utilizando-se como ligandos 40 compostos de pequena massa molecular (PMM), identificados em diferentes espécies de cogumelos, e como recetor a proteína anti-apoptótica BCL2. Tenta-se assim verificar se estes compostos têm a capacidade de inibir a BCL2 e, desta forma, promover a apoptose em células cancerosas.

2. MATERIAIS E METODOS

2.1. *Screening* Virtual

Realizou-se o *screening* virtual de uma biblioteca de 40 compostos PMM presentes em cogumelos, utilizando como proteína alvo a estrutura da BCL2 (PDB:2XA0). Como software de docking utilizou-se o AutoDock4 [6].

2.1. Dinâmica Molecular

Realizaram-se simulações de Dinâmica Molecular (DM) de 5 ns, para os 5 melhores compostos, de acordo com Mukherjee et al. [7] usando o programa Desmond v2.2 (D.E. Shaw Research, New York). Após as simulações, foram calculados os valores do desvio quadrático médio (*RMSD*) do composto e do recetor para cada simulação.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. *Screening* Virtual

Os compostos que obtiveram energias de ligação mais baixas (<-10 kcal/mol) foram os seguintes derivados de esteróides: ergosta-4,6,8(14),22-tetraen-3-ona, lactona lucidénica, cerevisterol e ácidos ganodéricos w e x (Tabela 1). A BCL2 apresenta uma zona extensa de interação com outras proteínas (Figura 1), onde se ligam proteínas apoptóticas, que ao ficarem sequestradas promovem a sobrevivência da célula. Desta forma, a ligação de PMM nesta zona pode impedir esta interação promovendo a apoptose. Quando se observou o modo de ligação dos 5 melhores compostos verificou-se que se ligaram em diferentes bolsas na zona de interação da BCL2 com outras proteínas.

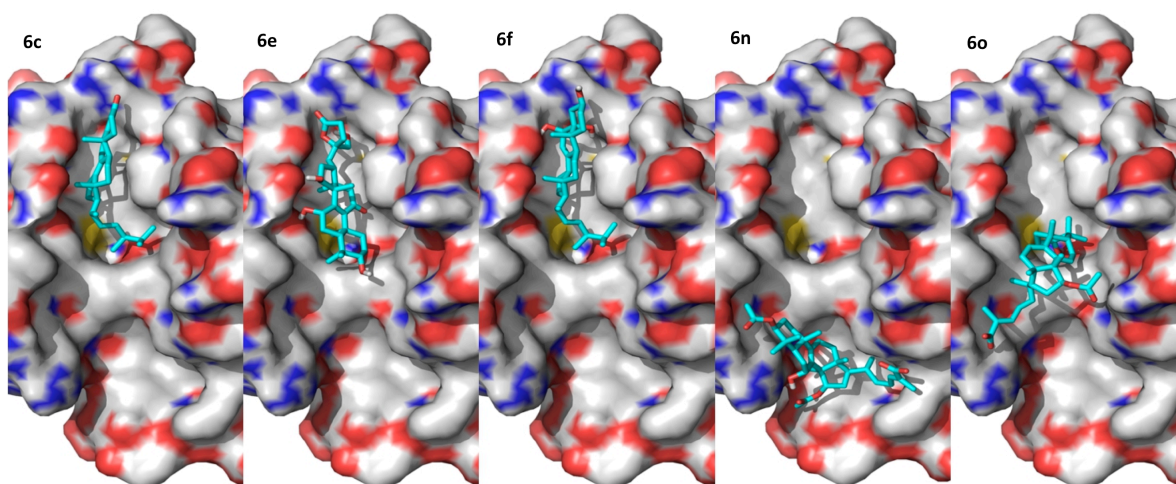
3.2. Dinâmica Molecular

As simulações DM fornecem uma análise mais realista da interação proteína-ligando, sendo o comportamento dos compostos analisado em detalhe ao longo das simulações.

Os valores de *RMSD* dos 5 compostos, assim como da estrutura da BCL2, estabilizaram após 1 ns, com a exceção do ácido ganodérico w que só estabilizou ao fim de 2.5 ns (Figura 2). Os valores do *RMSD* dos compostos durante a simulação MD variam entre 1.5 Å (**6c**) e 2.5 Å (**6o**). Já os valores de *RMSD* da estrutura da BCL2, para cada simulação, são aproximadamente 2 Å, com a exceção de **6e** com o valor médio de 4 Å.

Tabela 1. *Screening* Virtual da biblioteca de compostos PMM presentes em cogumelos.

Família	Compostos	Código	ΔG (KCal/mol)	Ki (nM)
Quinonas e hidroquinonas	Panepoxidona	1a	-5,37	115812
	Cicloepoxidona	1b	-5,36	117783
	Clavilactonas CA	1c	-7,44	3519
	Clavilactonas CB	1d	-6,99	7521
	Clavilactonas CD	1e	-7,09	6353
	Quinona 490	1f	-6,71	12065
	Hidroquinona	1g	-5,62	75946
Isoflavonas	Genisteína	2a	-6,62	14044
Catecóis	Hispidina	3a	-7,25	4850
	Gerroneminas A	3b	-8,08	1195
	Gerroneminas B	3c	-8,40	696
	Gerroneminas C	3d	-8,25	897
	Gerroneminas D	3e	-8,39	708
	Gerroneminas E	3f	-8,65	457
	Gerroneminas F	3g	-8,37	732
Aminas e amidas	2-Aminofenoxazin-3-ona	4a	-6,05	36754
	Putrescina-1,4-dicinamida	4b	-7,99	1391
Sesquiterpenos	Iludina S	5a	-5,94	44253
	Iludina M	5b	-5,86	50650
Esferóides	5,6-Epoxi-24(R)-metilcolesta-7,22-dien-3 β -ol	6a	-9,18	187
	Ergosterol	6b	-9,90	55
	Ergosta-4,6,8(14),22-tetraen-3-ona	6c	-10,10	40
	Acido lucidénico O	6d	-9,20	180
	Lactona lucidénica	6e	-10,47	21
	Cerevisterol	6f	-10,07	42
	Lucidumol A	6g	-9,70	78
	Lucidumol B	6h	-9,31	150
	Ganoderiol F	6i	-9,20	180
	Ganodermanondiol	6j	-9,97	49
	Ganodermanontriol	6k	-9,67	82
	Acido ganodérico A	6l	-9,68	80
	Acido ganodérico F	6m	-8,80	354
	Acido ganodérico W	6n	-10,00	47
	Acido ganodérico X	6o	-10,09	40
	Acido ganodérico Y	6p	-8,95	275
	Acido ganoderico T	6q	-9,01	249
	Acido poliporénico C	6r	-8,56	531
Acido desidroebricónico	6s	-9,16	193	
Ácido fomitélico A	6t	-9,01	249	
Ácido fomitélico B	6u	-8,49	598	

**Figura 1.** Representação do modo de ligação dos compostos **6c**, **6e**, **6f**, **6n** e **6o**, com energias de ligação mais baixas previstas pelo Autodock4, na proteína BCL2.

Os valores baixos e estáveis de *RMSD*, tanto para os compostos como para as estruturas da BCL2, são indicativos de que os modos de ligação, previstos pelo Autodock4, são provavelmente próximos da realidade.

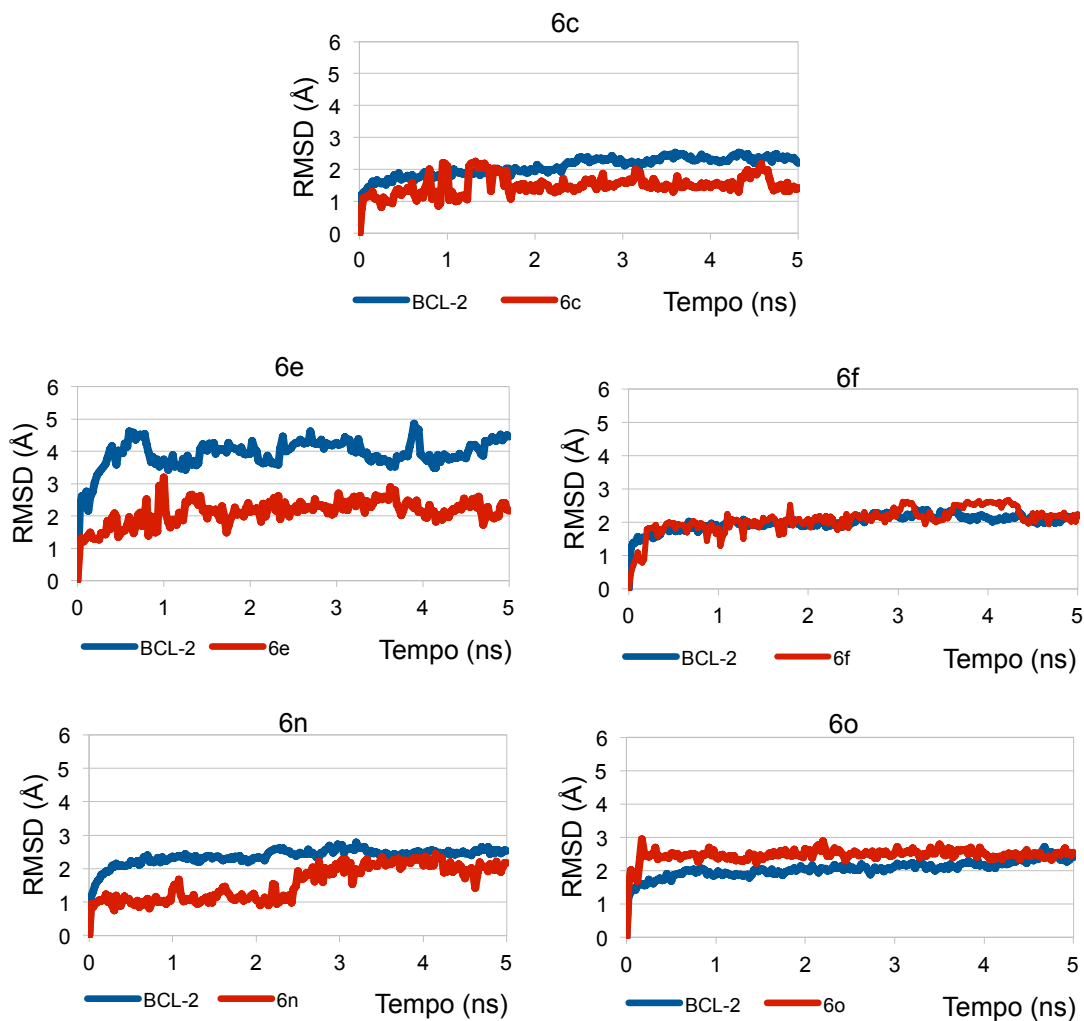


Figura 2. Valores de *RMSD* dos compostos (vermelho) e da estrutura da BCL2 (azul), durante os 5ns de cada simulação MD.

4. CONCLUSÕES

Em conclusão, o processo de apoptose promovido por extratos de cogumelos pode estar relacionado com a inibição da BCL2. De acordo com o nosso estudo, dos compostos estudados, os esteróides são os melhores candidatos a inibidores da BCL2, no entanto são necessários estudos experimentais para comprovar esta hipótese.

Agradecimentos

Os autores agradecem à FCT e ao COMPETE/QREN/EU (PTDC/AGR-ALI/110062/2009), e ao projeto estratégico do CIMO (PEst-OE/AGR/UI0690/2011).

Referências

- [1] MH Kang, CP Reynolds, Clin Cancer Res 2009, 15, 1126-32.
- [2] ICFR Ferreira, JA Vaz, MH Vasconcelos, A Martins, Anti-cancer Ag Med Chem 2010, 10, 424-436.
- [3] SO Choi, JY Oh. SJ Kim, J Cell Biochem 2011, 112, 330-40.
- [4] HS Kim, EH Lee, SR Ko, KJ Choi, JH Park, DS Im, Arch Pharm Res 2004, 27, 429-35.
- [5] LM Harhaji Trajković, S Mijatović, DD Maksimović-Ivanić, ID Stojanović, MB Momčilović, Sj Tufegdžić, VM Maksimović, et al, Nutr cancer 2009, 61, 696-707.
- [6] GM Morris, R Huey, W Lindstrom, MF Sanner, RK Belew, DS Goodsell, AJ Olson, J Comp Chem 2009, 30, 2785-2791
- [7] P Mukherjee, F Shah, P Desai, M Avery, J Chem Inf Model 2011, 51, 1376-92.