

ESTUDO DE DOCKING MOLECULAR E DINÂMICA DOS PRINCIPAIS INIBIDORES DA POLIMERASE DE CANDIDA AURIS

Pedro Paulino João¹
Pitra Pedro José Lopes²
Maryan Angelica Seixas Ayrán³
Joseano João André Rodrigues⁴
Aluísio Marques Da Fonseca⁵

RESUMO

Este estudo tem como objetivo o desenvolvimento de novos inibidores para a polimerase de *Candida auris*, um fungo emergente que se destaca por sua resistência significativa aos antifúngicos atualmente disponíveis. *C. auris* tem causado surtos de infecções hospitalares, sendo um grave problema de saúde pública devido à sua capacidade de sobreviver em ambientes hospitalares e resistir a múltiplas classes de medicamentos. Para identificar possíveis inibidores, foram empregadas técnicas de docking molecular e dinâmica molecular, que permitem prever a interação entre moléculas e a enzima alvo, fornecendo uma base robusta para a escolha de compostos promissores. O projeto também faz uso de ferramentas de bioinformática, como o MolAICal, que utiliza inteligência artificial para o design de novas moléculas otimizadas com maior eficiência. Os resultados preliminares mostraram que alguns dos compostos projetados apresentam alta afinidade pela polimerase de *Candida auris*, sugerindo seu potencial como candidatos promissores para o desenvolvimento de novos tratamentos antifúngicos. Essas descobertas oferecem uma nova perspectiva terapêutica para combater infecções hospitalares causadas por esse patógeno resistente, apontando para a necessidade de estudos adicionais, incluindo testes laboratoriais e ensaios clínicos, para confirmar a eficácia e segurança desses compostos. O avanço dessa pesquisa pode contribuir significativamente para a criação de novas estratégias no combate a infecções hospitalares.

Palavras-chave: *Candida auris*; docking molecular; dinâmica molecular; antifúngicos.

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (UNILAB), ICEN, Discente, pedropaulinojo434@gmail.com¹

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (UNILAB), ICEN, Discente, pitralopes1996@gmail.com²

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (UNILAB), ICEN, Discente, maryanayran14@gmail.com³

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (UNILAB), ICEN, Discente, jjoseano58@gmail.com⁴

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (UNILAB), ICEN, Docente, aluisiomf@unilab.edu.br⁵

INTRODUÇÃO

A *Candida auris* é um patógeno emergente de grande preocupação devido à sua resistência a múltiplos antifúngicos, representando um sério desafio à saúde pública. Desde sua identificação em 2009 no Japão, este fungo tem sido associado a infecções hospitalares graves e de difícil tratamento. Sua multirresistência a polienos, equinocandinas e azóis faz com que *C. auris* esteja entre as maiores ameaças globais relacionadas à resistência a medicamentos (Rhodes & Fisher, 2019; Bashir et al., 2020).

Diante disso, é crucial o desenvolvimento de novos fármacos, especialmente aqueles que inibam enzimas vitais, como a polimerase. O uso de ferramentas de bioinformática, como o docking molecular e o design de novo, tem acelerado o processo de descoberta de medicamentos, permitindo a criação de inibidores mais eficazes por meio da modelagem molecular. Além disso, a integração da inteligência artificial, especialmente com o uso do MolAICal, possibilita o design otimizado de inibidores tridimensionais específicos para alvos biológicos.

Este estudo busca identificar novos inibidores da polimerase de *C. auris* utilizando o MolAICal, seguido por simulações de dinâmica molecular para verificar a estabilidade dos complexos proteína-ligante gerados. Essas abordagens oferecem uma perspectiva promissora para o desenvolvimento de novas terapias antifúngicas.

METODOLOGIA

2.1. Preparação estrutural proteica

O Banco de Dados PDB forneceu a estrutura cristalina da proteína polimerase (PDB ID, 6VSI) (<https://www.rcsb.org/>) (Bashir et al., 2020). A co-cristalização do ligante *C. glabrata* polimerase (5HUA) definiu a cavidade para o desenho do fármaco por sobreposição proteica (BIOVIA, 2016). A liga FK-506 co-cristalizada foi excluída do novo desenho do fármaco e o cristal da polimerase da deep learning (DL). O arquivo de rede da polimerase de *Candida auris* foi produzida para o crescimento de fragmentos pelo pacote MolAICal (<https://molaical.github.io>) (Bai et al., 2021). O fragmento inicial de crescimento da polimerase foi um esqueleto de base da estrutura do ligante nativo FK-506. A estrutura da polimerase de *Candida auris* foi preparada para triagem virtual utilizando o Autodock Tools (Morris et al., 2009). As cargas de gasteiger e hidrogênio polar foram adicionadas à proteína, salvas no formato molecular pdbqt.

2.2. Modelo deep learning e design de drogas

O estudo utilizou o pacote MolAICal, que emprega um modelo gerador de deep learning treinado com 21.064 fragmentos de medicamentos aprovados pela FDA, para o design de novo de inibidores da polimerase de *Candida auris*. Foram utilizados 90 fragmentos gerados e outros 30 básicos, que cresceram na cavidade da polimerase com base em coordenadas de grid pré-definidas. A otimização das moléculas foi feita com base em 361 pontos de Fibonacci, e os compostos passaram por filtros, como a regra de Lipinski e o filtro PAINS, para garantir a viabilidade química e sintética.

2.3. Dinâmica molecular

A simulação de dinâmica molecular (DM) foi realizada utilizando o AutoDock Vina e o servidor CHARMM, com o complexo receptor-ligante inserido em uma caixa aquosa cúbica de 40 Å. As moléculas de água foram modeladas pelo campo de força TIP3P, com íons adicionados para neutralidade do sistema. Restrições de vibração em ligações covalentes e interações eletrostáticas com corte de 9,0 Å foram aplicadas. O sistema foi equilibrado em duas etapas de 10 ns cada, com condições de temperatura (NVT) e pressão (NPT) constantes, seguidas de 100 ns de simulação.

As simulações foram realizadas no NAMD versão 2.0, e os resultados visualizados no VMD, com gráficos gerados pelo Qtrace.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Tratamento

A geração molecular contra a proteína alvo foi realizada usando o pacote computacional MolAiCal (Bai et al., 2021) em uma CPU Intel®™ Core Intel de 10ª geração, até 32 GB de RAM e uma GPU NVIDIA® GeForce® GTX 1660 Ti, com um tempo de varredura definido para 8h. Dez clusters foram usados para gerar as estruturas. Uma média de aproximadamente 11.655 moléculas foram desenvolvidas para a proteína alvo durante o período experimental.

3.2. Produção de acertos

Após o novo método de planejamento de fármacos, utilizando software de inteligência artificial molaical, obtivemos 1.722 acertos (a substância ativa no sistema), a partir da estrutura inicial de crescimento (S)-piperidina-2-ilmetanol.

Foram processados até 10 clusters, todos os quais obtiveram estruturas com variação de energia de afinidade variando de -13,02 a -7,7 kcal/mol, com exceção de boa parte dos ligantes gerados pelo cluster 1, que obtiveram energias menos favoráveis.

3.4. Energia de afinidade

A análise selecionou os 100 melhores análogos, agrupando-os em clusters de similaridade com base na afinidade e disponibilidade sintética. Inicialmente, o Cluster 1 apresentou moléculas com baixa interação, mas algumas atingiram energias de até -7,8 kcal/mol, com destaque para o Hit 61. Do Cluster 2 ao Cluster 10, houve um aumento na afinidade de ligação, sendo o Hit 440 do Cluster 4 o melhor, com uma energia de -13,02 kcal/mol. Outros hits relevantes foram o Hit 299 (-9,25 kcal/mol), Hit 394 (-9,47 kcal/mol), e Hit 617 (-10,7 kcal/mol).

O Cluster 6 apresentou uma molécula com 75% de acessibilidade sintética, o Hit 960, com uma energia de -9,12 kcal/mol, superando o ligante de referência em termos de afinidade e acessibilidade.

3.3. Disponibilidade sintética

O estudo explora uma nova abordagem no design de medicamentos, destacando que fragmentos bem posicionados e ligações de hidrogênio, especialmente lipofílicos, podem proporcionar interações energéticas significativas. No entanto, à medida que a diversidade de fragmentos aumenta, a complexidade na criação de compostos terapêuticos também cresce (Jain & Agrawal, 2004; Wang et al., 2022). A acessibilidade sintética (SA) é mencionada como uma ferramenta essencial para avaliar a facilidade de síntese de ligantes (Ertl & Schuffenhauer, 2009), fundamental no desenvolvimento de candidatos a medicamentos (Scotti et al., 2013). O estudo observou que quanto melhor a interação do ligante com a proteína, mais complexa se torna a síntese do composto. Mesmo assim, foi possível obter ligantes com boa afinidade (entre -7 e -10 kcal/mol) e síntese relativamente simples, como no caso do composto Hit 960, que apresentou alta afinidade e acessibilidade sintética satisfatória (70-80%) (Ver Figura 4).

3.5. Interação com resíduos de proteínas

O Hit 960 forneceu no acoplamento molecular um RMSD de 1,3 Å, com uma energia de afinidade de -9,12 kcal / mol, interagindo na mesma região que a liga nativa FK-506. Com interações robustas, o Hit 960 apresentou três ligações de hidrogênio intramolecularmente nos resíduos Asp 44, Arg 49 e Tyr 33. Um intermolecular na região oxigenada, acompanhado de interação hidrofóbica do tipo alquila com Phe 94, Leu

97 e Ile 98, que fazem parte da região ativa da proteína (Bashir et al., 2020). O ligante nativo FK-506, utilizado como referência positiva na pesquisa, apresentou as interações polares representadas por cinco ligações de hidrogênio nos resíduos Asp 44 (dois), Tyr 89, Val 62 e Gln 61, além das interações hidrofóbicas do tipo alquila com Leu 97, necessárias na região da proteína ativa, Tyr 89, Trp 66, Phe 53 e Tyr 33.

3.7. Dinâmica molecular

3.7.1. Análise RMSD

Após a análise dos valores de energia, outros parâmetros importantes para investigar a qualidade da dinâmica molecular são o Root Mean Square Deviation (RMSD) da proteína (backbone) para Hit 960 e FK-506. Os valores de RMSD obtidos pela estrutura proteica ao longo dos MDs mostram todos os valores entre 1 e 3,50 Å. No MD com o ligante Hit 960, o perfil está entre 1,5 a 3,5 Å e permanece mais estável a 97 ns com RMSD próximo a 2 Å. Logo em seguida, no MD do ligante de referência FK-506, apresentou uma situação de adequação próxima a 70 ns, o sistema mais favorável durante a trajetória de 100ns.

3.7.2. Análise da FMMR

A Flutuação da Raiz Quadrada Média (RMSF) é um parâmetro relacionado à flexibilidade de resíduos proteicos individuais, servindo para avaliar qualitativamente a progressão da dinâmica molecular (Dong et al., 2018).

3.7.3. Ligações H

O número de ligações de hidrogênio (H-Bond) encontradas durante os MDs, considerando o valor máximo de 3,3 Å. Pode-se observar que o MD com Hit 960 apresenta até 3 ligações de hidrogênio por quadro e vários quadros com duas ligações de hidrogênio. Sobre o MD com ligante de referência FK-506, existem apenas dez quadros com três ligações de hidrogênio e vários quadros com duas ligações de hidrogênio durante a dinâmica molecular. Portanto, pode-se inferir que tanto o FK-506 quanto o Hit 960 tendem a interagir com a polimerase, tornando-o um possível antifúngico eficiente contra esse superfungo.

Nos resíduos identificados com ligações H ao longo da dinâmica molecular, nos resultados, observa-se a recorrência dos resíduos Asp 44, demonstrando assim um potencial de interação tanto da Hit 960, quanto da interação entre a polimerase e a FK-506.

3.7.4. Área de superfície acessível ao solvente

A Área de Superfície Acessível ao Solvente (SASA) é definida como a área de superfície de uma proteína que interage com suas moléculas de solvente (Mazola et al., 2015). Durante simulações de dinâmica molecular (MD) de 100 ns, os complexos FK-506 e Hit 960 apresentaram aumentos nos valores de SASA entre 10 e 20 ns, indicando um relaxamento estrutural. Os valores médios de SASA foram de 6.970 Å² para FK-506 e 6.499 Å² para Hit 960, com pequenas flutuações após esse período, sugerindo que as simulações atingiram um estado equilibrado. O SASA foi maior na presença de íons monovalentes estabilizadores, enquanto a ausência desses íons resultou em grandes flutuações. A variação no SASA foi atribuída, principalmente, à área flexível da região C-terminal da proteína.

CONCLUSÕES

Esse estudo abordou o uso de métodos de design de fármacos assistidos por pesquisa computacional para identificar novos candidatos ao tratamento do fungo *Candida auris*. O processo acelerou o desenvolvimento de medicamentos, reduzindo o tempo e os custos tradicionais. Foram projetados derivados estruturais de (S)-piperidin-2-ilmetanol, resultando em 1.722 hits, dos quais o composto Hit 960 se destacou com alta afinidade (-9,12 kcal/mol) em comparação ao ligante de referência FK-506 (-7,3 kcal/mol). Além disso, o Hit 960 apresentou viabilidade sintética de 75% e foi identificado como o inibidor mais potente, com maior



estabilidade nos estudos de dinâmica molecular. O estudo sugere que o composto seja testado em ensaios clínicos e otimizado para futuros projetos de medicamentos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao CNPq e à UNILAB pelo apoio financeiro durante o desenvolvimento deste projeto, e ao meu orientador, cujo conhecimento e orientação foram fundamentais para o meu aprendizado.

REFERÊNCIAS

- Agatonovic-Kustrin, S., & Beresford, R. (2000). Basic concepts of artificial neural network (ANN) modeling and its application in pharmaceutical research. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 22(5), 717-727. [https://doi.org/10.1016/S0731-7085\(99\)00272-1](https://doi.org/10.1016/S0731-7085(99)00272-1)
- Arshia, A. H., Shadravan, S., Solhjoo, A., Sakhteman, A., & Sami, A. (2021). De novo design of novel protease inhibitor candidates in the treatment of SARS-CoV-2 using deep learning, docking, and molecular dynamic simulations. *Computers in Biology and Medicine*, 139. <https://doi.org/10.1016/j.compbiomed.2021.104967>
- Bai, Q., Tan, S., Xu, T., Liu, H., Huang, J., & Yao, X. (2021). MolAICal: a soft tool for 3D drug design of protein targets by artificial intelligence and classical algorithm. *Briefings in Bioinformatics*, 22(3), 1-12. <https://doi.org/10.1093/bib/bbaa161>
- Bashir, Q., Li, Z., Li, H., LeMaster, D. M., & Hernández, G. (2020). Crystal structure and transient dimerization for the FKBP12 protein from the pathogenic fungus *Candida auris*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 525(4), 1103-1108. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2020.03.059>
- Biovia. (2015). Dassault Systemes BIOVIA, Discovery Studio Modelling Environment, Release 4.5. In Accelrys Software Inc. (4.5).
- BIOVIA, D. S. (2016). Discovery Studio Modeling Environment, Release 2017, San Diego. In Dassault Systèmes.
- Chen, F., Sun, H., Wang, J., Zhu, F., Liu, H., Wang, Z., Lei, T., Li, Y., & Hou, T. (2018). Assessing the performance of MM/PBSA and MM/GBSA methods. 8. Predicting binding free energies and poses of protein-RNA complexes. *RNA*, 24(9), 1183-1194. <https://doi.org/10.1261/rna.065896.118>
- Dias, L. C., Dessoy, M. A., Guido, R. V. C., Oliva, G., & Andricopulo, A. D. (2013). Doenças tropicais negligenciadas: uma nova era de desafios e oportunidades. *Química Nova*, 36(10), 1552-1556. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422013001000011>
- Diez, M., Petuya, V., Martínez-Cruz, L. A., & Hernández, A. (2014). Insights into mechanism kinematics for protein motion simulation. *BMC Bioinformatics*, 15(1). <https://doi.org/10.1186/1471-2105-15-184>