

Universidade de São Paulo

Faculdade de Ciências Farmacêuticas

Programa de Pós-graduação em Fármaco e Medicamentos

Área de Insumos Farmacêuticos

**Planejamento de inibidores seletivos de sirtuína 2 de tripanossomatídeos baseado
em fragmentos moleculares (FBDD)**

Renan Augusto Gomes

Tese para a obtenção do título de DOUTOR

Orientador: Prof. Dr. Gustavo Henrique Goulart Trossini

São Paulo

2020

Universidade de São Paulo

Faculdade de Ciências Farmacêuticas

Programa de Pós-graduação em Fármaco e Medicamentos

Área de Insumos Farmacêuticos

**Planejamento de inibidores seletivos de sirtuína 2 de tripanossomatídeos baseado
em fragmentos moleculares (FBDD)**

Renan Augusto Gomes

Versão Original

Tese para a obtenção do título de DOUTOR

Orientador: Prof. Dr. Gustavo Henrique Goulart Trossini

São Paulo

2020

RESUMO

GOMES, R. A. **Planejamento de inibidores seletivos de sirtuína 2 de tripanossomatídeos baseado em fragmentos moleculares (FBDD)**. 2020. 101f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2020.

É conhecida a carência das doenças tropicais negligenciadas por novos fármacos eficazes, com reduzida toxicidade, de fácil administração e reduzido custo. As doenças de Chagas e do sono, causadas pelos protozoários *Trypanosoma cruzi* e *T. brucei*, respectivamente, não são exceção. A identificação de novos alvos terapêuticos parasitários, como as sirtuínas-2, contribuiu para a melhora dessa perspectiva, mas o conhecimento produzido acerca deles ainda é inexpressivo. Neste estudo, as proteínas 1 relacionadas a sirtuínas-2 de *T. brucei* (TbSir2rp1) e *T. cruzi* (TcSir2rp1), enzimas participantes da regulação epigenética parasitária, foram estudadas por meio de técnicas *in silico* e *in vitro* para o desenvolvimento de inibidores baseados em fragmentos moleculares (FBDD). A partir da construção modelos de estrutura terciárias dos alvos por modelagem comparativa e estudo das respectivas estruturas primárias, foram identificados 12 resíduos a serem explorados para a descoberta de inibidores potentes e cinco resíduos para contribuir com perfil seletivo em relação à Sir2 humana. A obtenção das enzimas parasitárias e determinação das respectivas constantes cinéticas foram realizadas com sucesso para a determinação das condições para os estudos de inibição enzimática *in vitro*. Na triagem em dose única de biblioteca de fragmentos, dezenas de compostos inibiram ao menos 50% das Sir2rp1 a 500 μM . Após a determinação de seis curvas de concentração-resposta para os compostos mais promissores, a exploração do espaço químico consistiu na investigação de 28 compostos derivados dos dois fragmentos mais potentes ($\text{IC}_{50} = 17,8$ e $77,9 \mu\text{M}$). Com base em valores de inibição de Sir2 humana e atividade tripanocida disponíveis na base de dados pública ChEMBL e descritores químicos interpretáveis, foram construídos modelos preditivos classificatórios validados para a identificação de compostos com potencial perfil tripanocida contra ambos os parasitas e seletivo em relação à enzima humana. Por fim, como resultado de protocolo de triagem virtual, foram identificados compostos cinco compostos derivados dos fragmentos triados com reatividade desprezível, perfil tripanocida e seletivo, alta solubilidade, alta complementaridade com o sítio ativo das Sir2rp1 e propriedades ADME-Tox favoráveis para considerá-los como candidatos a agentes quimioterápicos contra os parasitas.

Palavras-chave: Doença de Chagas. Doença do sono. Epigenética. Quimioinformática. Fragmentos moleculares.

ABSTRACT

GOMES, R. A. **Design of selective inhibitors of trypanosomatid sirtuin-2 by fragment-based drug design (FBDD)**. 2020. 101p. Thesis (PhD degree) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2020.

The lack of new effective drugs with low toxicity, easy administration and reduced cost for tropical neglected diseases treatment is known. Chagas disease and sleep sickness, caused by the protozoans *Trypanosoma cruzi* and *T. brucei*, respectively, are no exception. The identification of new parasitic therapeutic targets, such as sirtuins-2, contributed to the improvement of this perspective, but the knowledge produced regarding them is still inexpressive. In this study, proteins related to sirtuin-2 of *T. brucei* (TbSir2rp1) and *T. cruzi* (TcSir2rp1), enzymes participating in the parasitic epigenetic regulation, were studied using *in silico* and *in vitro* techniques for the development of inhibitors based on molecular fragments (FBDD). Starting with the target construction of tertiary structure models by comparative modeling and study of the respective primary structures, 12 residues were identified to be explored for the discovery of potent inhibitors and five residues to contribute with the selective profile in relation to human Sir2. Obtaining parasitic enzymes and determining the respective kinetic constants were successfully performed to determine the conditions for *in vitro* enzyme inhibition studies. In the single-dose screening of the fragment library, dozens of compounds inhibited at least 50% of Sir2rp1 at 500 μM . After the determination of six concentration-response curves for the most promising compounds, the exploration of the chemical space consisted of the investigation of 28 compounds derived from the two most potent fragments ($\text{IC}_{50} = 17.8$ and $77.9 \mu\text{M}$). Based on human Sir2 inhibition and trypanocidal activity data available in the ChEMBL public database and interpretable chemical descriptors, validated predictive models for the identification of compounds with potential trypanocidal profile against both parasites and selective in relation to the human enzyme were constructed. Finally, as a result of the virtual screening protocol, five compounds were identified, derived from the screened fragments with negligible reactivity, trypanocidal and selective profile, high solubility, high complementarity with the Sir2rp1 active site and favorable ADME-Tox properties to consider them candidates as chemotherapeutic agents against the parasites.

Keywords: Chagas disease. Sleeping sickness. Epigenetics. Cheminformatics. Molecular fragments.