

Validação *In silico* do transportador de hexose do *Plasmodium falciparum* (Pfht)

NUNES.R.R.*¹; FONSECA.A.L.¹; ALVES.R.J.²; COMAR JR.M.¹; TARANTO.A.G.¹

RESUMO

Devido a grande resistência do *Plasmodium falciparum* as terapias já existentes, é necessário desenvolver antimaláricos mais eficazes. Estudos anteriores tem mostrado que o receptor transportador de hexose do *Plasmodium falciparum* (PfHT) tem grande relevância para novos estudos, pois, a sua inibição diminui a absorção da glicose e, conseqüentemente, elimina o parasito. Nosso estudo teve como objetivos construir um modelo do receptor da PfHT capaz de descrever a atividade biológica e a conformação farmacofórica de derivados de glicose através de estudos de acoplamento molecular entre ligante-receptor.

Palavras-chave: *Plasmodium falciparum*, Ancoragem Molecular, AMBER.

INTRODUÇÃO

A pesquisa de novas terapias é necessário devido ao aumento da resistência do parasita as drogas atuais¹. Estudos genéticos experimentais têm suportado que o transportador de hexose e de *Plasmodium falciparum* (PfHT) é um potencial alvo molecular para o desenvolvimento de drogas antimaláricas. A sua inibição diminui a absorção da glicose e, conseqüentemente, elimina o parasita². A liberação de sequência primária da PfHT no PlasmoDB database³ nos motivou a construir modelos PfHT, a fim de realizar estudos de concepção racional de medicamentos, sendo assim, o principal objetivo deste estudo foi construir um modelo do receptor da

PfHT que é capazes de descrever a atividade biológica e a conformação farmacofórica de derivados de glicose através de estudos de acoplamento molecular entre ligante-receptor.

MATERIAL E MÉTODOS

As proteínas com características similares a PfHT foram selecionadas para a construção de um novo receptor a fim de determinar a estrutura tridimensional da PfHT e simular a interação com os inibidores de carboidratos (1, 6 e 7)⁴ selecionados. Dados da literatura demonstram que tais moléculas de carboidrato são essenciais para inviabilizar a sobrevivência do *Plasmodium falciparum* justificando sua utilização no presente estudo.

A sequência primária da PfHT foi obtida no banco de dados PlasmoDB (número de acesso: PFB0210c), este foi submetida ao *software* Basic Local Alignment Search Tool (BLAST)⁵ para obter as proteínas de maior similaridade sequencial que tenham suas estruturas resolvidas experimentalmente no PDB, para que fosse possível construir os modelos da PfHT por modelagem comparativa.

O modelo teórico tridimensional foi construído pela sobreposição da sequência primária da molécula de PfHT com o respectivo molde que foi obtido do PDB usando o *software* SWISS-MODEL⁶.

De posse das estruturas tridimensionais das proteínas com maior grau de identidade com a PfHT e os inibidores presente nas mesmas obtidos do PDB foi simulado o re-docking do inibidor já complexado com a proteína para validar a metodologia usando o *software* Autodock Vina.

Os inibidores selecionados a serem utilizados foram desenhados em sua conformação estendida utilizando o *software* Gauss View 5.0 e todos os compostos foram refinados utilizando o método semi-empírico PM6.⁷ (Figura 1)

O receptor e os ligantes foram preparados usando o *software* Autodock Vina⁸, que gerou uma caixa no sítio de ligação das proteínas.

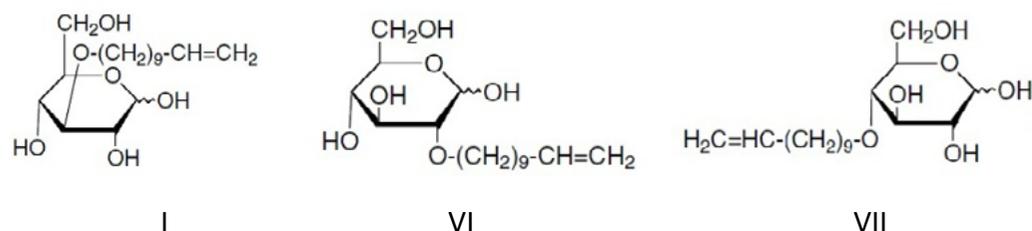
¹ Universidade Federal de São João del Rei - Campus CCO - Rua Sebastião Gonçalves Coelho, 400 - Chanadour - MG - CEP 35.501-296.

² Universidade Federal de Minas Gerais - Av. Antônio Carlos, 6627 - Pampulha - Belo Horizonte - MG - CEP 31.270-901. E:mail: renata.rachidee@gmail.com

As proteínas PfHT construídas por homologia juntamente dos seus inibidores obtidos da simulação de ancoragem molecular tiveram suas energias minimizadas no *software* Sander do pacote AMBER, usando o modelo de solvente implícito⁹, com um número máximo de 15000 ciclos, usando um campo de força ff0312, e um valor de cutoff de 20 Å para as interações de átomos não ligados.

Após concluir todos os cálculos, os valores de energia foram analisados tal como as interações presente nos complexos ligante-receptor.

Figura 1: Compostos derivados de açúcar (O-(undec-10-en)-l-D-glucose) utilizados para realizar a ancoragem molecular.



RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir das proteínas com seu respectivo grau de identidade a PfHT: 207Q (49%), 307Q (37%) foi elaborado o modelo do receptor da PfHT.

Após a construção dos modelos do receptor da PfHT, no decorrer das análises observou-se que o mesmo apresenta características próximas de um transportador de hexose.

O valor de RMSD do inibidor complexado como receptor PfHT determinados após o re-docking foi de 0,7454 Å. O limite de RMSD de 2 Å é frequentemente utilizado como indicativo de uma adequada predição de ligação, sendo assim correu boa sobreposição da conformação do ligante que foi submetido ao re-docking molecular quando comparado com sua estrutura cristalográfica otimizada pelo método de minimização de energia, demonstrando que esta metodologia está adequada para determinar a

interação dos carboidratos com os modelos da PfHT (figura 2).

Após a realização da ancoragem molecular, os valores de energia de ligação dos carboidratos com o receptor de PfHT variou de -5.2kcal/mol a -5.6 kcal/mol.

Ao minimizar as energias minimizadas no *software* Sander do pacote AMBER, usando o modelo de solvente implícito obtendo-se assim melhores valores de energia no qual variou de -8530.00kcal/mol a -8670.00 kcal/mol.

O inibidor VII foi o inibidor que melhor interagiu com o receptor, tendo como energia -32,00 kcal/mol e interação receptor-inibidor com aminoácidos: ligação de Hidrogênio (TYR80, LYS198, ASN17, ILE110, THR114 e ASN21) e interações de Wan der Walls (THR18, GLN138, SER14, LEU77, VAL117, HIE137, ARG73, LEU205, VAL113, ILE141, THER, VAL13) (figura 3)

Figura 2: Redocking do receptor, ocorreu boa sobreposição da conformação do ligante, com valor de RMSD all atoms 0.7454 Å

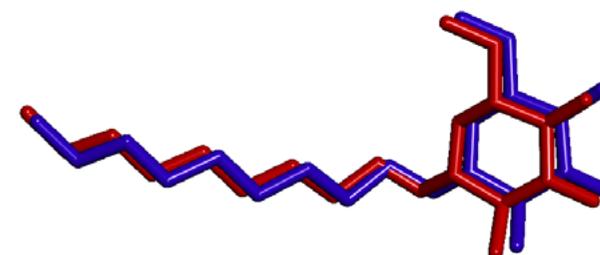
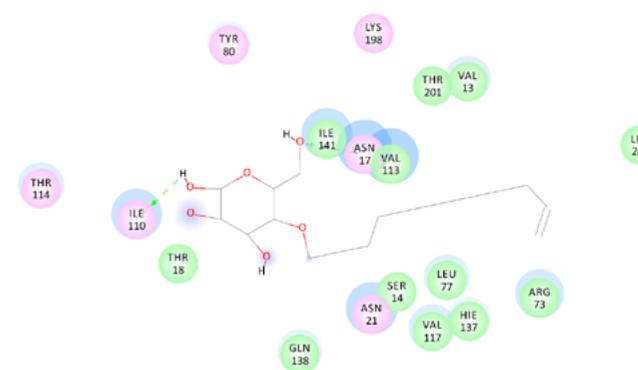


Figura 3: Representação bidimensional as interações intermoleculares entre ligante-receptor. Rosa: Interação iônica e Verde: Interação de Wan Der Walls.



CONCLUSÕES

Portanto os estudos computacionais sugeriram um provável sítio ativo do facilitador de transporte de hexoses (PfHT), além disso, os resultados mostraram as principais interações intermoleculares mostrando que o receptor criado pode ser utilizado para conceber novos derivados de glicose com atividade antimalárica utilizando abordagens baseadas em estrutura de novo design.

REFERÊNCIAS

- (1) GOMES, A. P.; VITORINO, R. R.; COSTA, A. P.; MENDONÇA, E. G.; OLIVEIRA, M. G. A.; SIQUEIRA-BATISTA, R.. Revista Brasileira de Terapia Intensiva., v. 23, p. 358-369, 2011
- (2) SLAVIC, K.; STRASCHIL, U.; REININGER, L.; DOERING, C.; MORIN, C.; TEWARI, R.; KRISHNA, S.. Plasmodial sugar transporters as anti-malarial drug targets and comparisons with other protozoa. **Malaria Journal** 10:165, 2011.
- (3) BAHL, A.; BRUNK, B.; CRABTREE, J.; FRAUNHOLZ, M.J.; GAJRIA, B.; GRANT, G.R.; GINSBURG, H.; GUPTA, D.; KISSINGER, J.C.; LABO, P.; Li. L.; MAILMAN, M.D.; MILGRAM, A.J.; PEARSON, D.S.; ROOS, D.S.; SCHUG, J.; STOECKERT, C.J.; WHETZEL, P.A.. **Nucleic Acids Research**. V. 31 nº1, p. 212-215 2003.
- (4) IONITA, M.; KRISHNA, S.; LÉO, P.M.; MORIN, C.; PATEL, A.P. Interaction of o -(undec-10-en)-yl- d -glucose derivatives with the plasmodium falciparum hexose transporter (PfHT). **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 17, p.4934-4937, 2007
- (5) Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ. Basic local alignment search tool. *J Mol Biol*1990; 215:403-10. Available from URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/> (accessed 03.06.13).
- (6) Bordoli L, Kiefer F, Arnold K, Benkert P, Battey J, Schwede T. Protein structure homology modeling using SWISS-MODEL workspace. *Nature Protocols* 2009;4:1-13.
- (7) DENNINGTON R, KEITH T, MILLAM J. GaussView, Version 5, Semichem Inc., **Shawnee Mission KS**; 2009.
- (8) TROTT O, OLSON A.J. Software News and Update AutoDock Vina: Improving the Speed and Accuracy of Docking with a New Scoring Function, Efficient Optimization, and Multithreading. **Journal of Computational Chemistry**. 31(2):455-61, 2010.
- (9) Lee MC, Duan Y. Distinguish protein decoys by using a scoring function based a new Amber force field, short molecular dynamics simulations, and the generalized Born solvent model. **Proteins** 2004;55:620-34.