

Estudos de dinâmica molecular das interações proteína-ligantes da PfHT

FONSECA, A.L.^{*1}; NUNES, R.R.¹; COMAR JR, M.¹; ALVES, R.J.²; VAROTTI, F.P.¹; TARANTO, A.G.¹

RESUMO

A malária é um dos principais problemas de saúde pública no mundo. A crescente resistência adquirida pelo parasito aos fármacos atuais endossa a necessidade pela busca de novos antimaláricos. A PfHT têm se mostrado como importante alvo molecular no desenvolvimento de novos antimaláricos, por inibir a absorção de glicose levando à morte do parasito. Com o objetivo de estudar as interações de receptores com a PfHT, visando o planejamento de novas moléculas bioativas que bloqueiam a biossíntese e induzam à morte o parasita foram realizados estudos de dinâmica molecular das interações proteína-ligante da PfHT. Os resultados preliminares motivam a utilização do modelo do receptor da PfHT como inibidor no transporte de hexose no ciclo de vida do parasita por apresentarem estabilidade durante a interação. Assim, novos compostos protótipos poderão ser planejados, os quais poderão ser capazes de se ligarem a este receptor de forma mais efetiva e seletiva.

Palavras-chave: PfHT, antimaláricos, carboidratos, glicosídeomimético, Dinâmica Molecular

INTRODUÇÃO

A malária é um problema de saúde em todo o mundo e, de acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), afeta mais de 225 milhões de pessoas, ocasionando cerca de 700 mil mortes a cada ano. A malária pode levar a mais óbitos do que a AIDS devido ao seu alcance epidemiológico e

pela possibilidade de desenvolvimento de quadros graves¹.

A busca por novos fármacos para o combate à malária tem se tornado objeto de estudo em todo o mundo, pois o aumento da resistência da doença aos quimioterápicos clássicos é crescente o que aumenta a necessária e urgente busca por novos alvos moleculares².

Os recursos computacionais podem auxiliar no desenvolvimento de novos fármacos, que podem ser planejado com base na estrutura do receptor que são analisados por meio de simulações de dinâmica molecular^{3,4}. Desta forma uma grande variedade de novos candidatos a fármacos contra a malária podem ser identificados através da modelagem molecular (MM).

Técnicas de modelagem por homologia foram utilizadas em estudo prévio⁵ para elaboração do modelo teórico da proteína transportadora de hexose do *Plasmodium falciparum* (PfHT), que é essencial ao ciclo de vida do parasita *Plasmodium falciparum*, pois atua no transporte de hexose do parasita, podendo ser considerada um potencial alvo para o desenvolvimento de novos quimioterápicos contra a malária¹.

Com o objetivo de estudar as interações de receptores com a PfHT, visando sugerir novas moléculas bioativas que sejam capazes de bloquear a biossíntese e induzir à morte o parasita, foram realizados estudos de Dinâmica Molecular (DM) para estudar as interações proteína-ligante no complexo ligante-PfHT. Basicamente a DM é um processo no qual simula-se a evolução temporal do sistema sob estudo através da resolução das equações de movimento de Newton, embora escritas na formulação hamiltoniana,

$$\dot{x} = \frac{\partial H}{\partial p} \quad e \quad \dot{p} = -\frac{\partial H}{\partial x}$$

Nas equações acima, H é o hamiltoniano do sistema (a soma das energias potencial e cinética) e \dot{x} e \dot{p} são as derivadas temporais da posição e do momento linear, respectivamente. As equações acima são chamadas de equações hamiltonianas de movimento e sua resolução a

¹ Universidade Federal de São João del-Rei-UFSJ - Campus CCO — Laboratório de Modelagem Molecular e Bioquímica de Parasitos –Divinópolis - Minas Gerais

² Universidade Federal de Minas Gerais-UFMG - Laboratório de Química – Belo Horizonte –Minas Gerais
E-mail: amalufonseca@yahoo.com.br

partir de um conjunto inicial de condições (como posições e velocidades iniciais) resulta em trajetórias a partir das quais informações energéticas, entrópicas e de outros tipos podem ser obtidas através da aplicação dos conceitos da termodinâmica estatística.

MATERIAL E MÉTODOS

Apartir da obtenção da sequência primária da PfHT disponível no Banco de dados do *Plasmodium* (PlasmoDB)⁶, foi realizada uma pesquisa no Blast, no SWISS MODEL e no PSIPRED para obtenção das proteínas com grau de identidade referente a PfHT. A partir da proteína 1XWI foram elaborados o modelo no modo projeto do programa Deep View-Swiss PdbViewr os quais possíveis receptores para a PfHTOs compostos 7A e 7B derivados de carboidratos foram analisados por simulações de DM utilizando o programa Amber utilizando o campo de força ff03, para a proteína, pois ele é especificamente parametrizado para estes compostos e o GAFF (General Amber Force Field) para o carboidrato, pois ele é parametrizado para moléculas orgânicas^{7,8}.

O algoritmo SHAKE foi usado para limitar o movimento das ligações entre átomos pesados e os hidrogênios. As velocidades foram randomicamente associadas aos átomos através de um processo de aquecimento até a temperatura de 300K em uma simulação de 160ps. A partir deste sistema uma simulação de 8ns foi realizada com um passo de tempo de 0.0008 ps. Para efeito de simulação dos efeitos do solvente sobre o sistema, foi utilizado o modelo do solvente implícito com os parâmetros descritos por Cramer *et al*⁹ e um raio de corte (cutoff) de 14Å foi utilizado afim de levar em consideração os resíduos vizinhos ao ligante.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O modelo 10 apresentou o valor de Z-score -9.125. A simulação de DM de 2 carboidratos complexados com o modelo teórico da proteína PfHT resultou em trajetórias cuja análise indicou que todos os carboidratos

complexados adquiram uma estabilidade energética e estrutural durante a simulação (Fig. 1,2-A e B). A estrutura de equilíbrio mostrou a interação entre o sítio de ligação dos aminoácidos VAL230, 232, 233,258,270; SER235; TRP281; MET 255, 262, 336; LEU231, 238, 261, 273, 278; ASN259, 304; PHE305, 337; GLU340; ILE 308; GLY271, 274; ARG275; THR277 (Fig. 2-C).

Figura 1: Gráfico de simulação de DM do modelo PfHT: A)1a , B) 1b

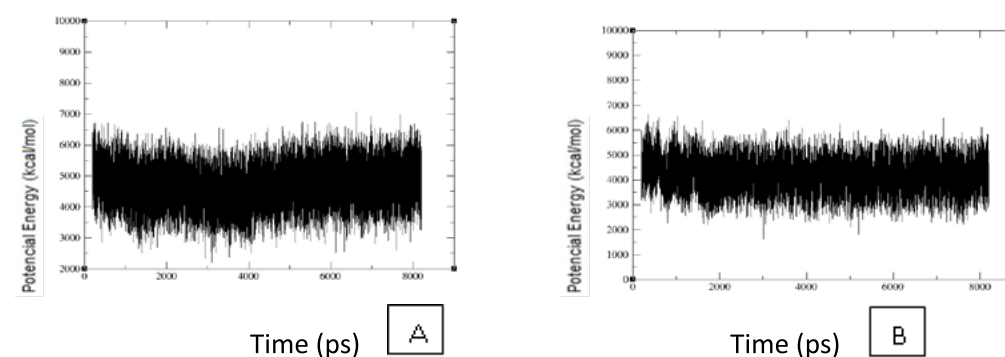
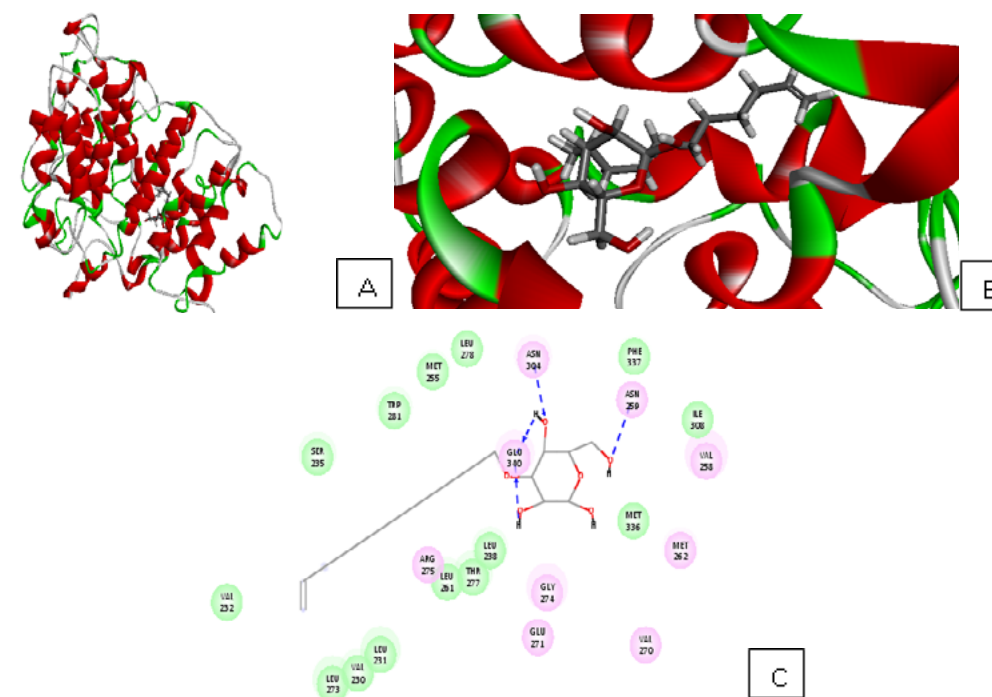


Figura 2: A) Modelo PfHT; B) Detalhes do ligante no sítio ativo (forma de tubo); C) Mapa farmacofórico do ligante derivado glicosídico.



O refinamento do modelo demonstrou que a cadeia alquílica atingiu um bolso hidrofóbico. Além disso, parte das hidroxilas realizaram ligações de hidrogênio com os aminoácidos ASN 259, 304; GLU340, semelhante a dados experimentais.

Carvalho e colaboradores¹⁰ ressaltam a importância do uso da química computacional e técnicas de visualização gráfica. Ferramentas estas utilizadas neste estudo para análise da estrutura da proteína e ligante e sua interação.

CONCLUSÕES

A partir dos dados obtidos é possível identificar as principais interações intermoleculares de 6 novos derivados de carboidratos. Estes achados somados às demais metodologias *in silico* podem contribuir para o desenvolvimento racional de novos fármacos por descreverem as interações intermoleculares entre o ligante e o receptor. Adicionalmente, de posse da estrutura do receptor, pode-se seguir para estudos de triagem virtual e conseqüentemente contribuir para identificar compostos que tenham atividade de inibir o transporte de hexose durante o ciclo de vida do Plasmodio.

REFERÊNCIAS

- (1) GOMES, A.P.; VITORINO, R.R.; COSTA, A.P.; MENDONÇA, E.G.; OLIVEIRA, M.G.A.; SIQUEIRA-BATISTA, R.. Severe *Plasmodium falciparum* malária. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**. v 23, 358-369, 2011.
- (2) 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.
- (3) FRANÇA, T.C.C.; WILTER, A.; RAMALHO, T.C.; PASCUTTI, P.G.; FIGUEROA-VILLAR, J.D.. Molecular Dynamics of the Interaction of *Plasmodium falciparum* and Human Serine Hydroxymethyltransferase with 5-Formyl-6-hydrofolic Acid Analogues: Design of New Potential Antimalarials. **Journal Brazilian. Chemical Society**, v. 17, nº 7, 1383-1392, 2006.
- (4) BECKER, O.M.; MACKERELL, A.D.; ROUX, B.; WATANABE, M.; Computacional Biochemistry e Biophysics. **WWTB**, 525 pp, 2001
- (5) FONSECA, A.L.; NUNES, R.R.; COMAR JR, M.; ALVES, R.J.; VAROTTI, F.P.; TARANTO, A.G.. **Development of molecular targets models for PfHT by comparative modeling**, Anais do VI Brazmedchem, Gramado 2012.
- (6) BAHL, A. *et. al.*. PlasmoDB: the *Plasmodium* genome resource. A database integrating experimental and computational data. **Nucleic Acids Res**, v.31. n.1, p. 212-215, 2003.
- (7) SILVA, G.M.. Guia Foca/Linux. **GNU** 2007, 133 pp.
- (8) CASE, D.A. *et. al.*. Amber 11 User`s Manual. **University of California** 2006, 320 pp.
- (9) CRAMER, C. J.; TRUHLAR, D. G., "Implicit Solvation Models: Equilibria, Structure, Spectra, and Dynamics," *Chem. Rev.*, 99, 2161-2200, 1999.
- (10) CARVALHO, I.; PUPO, M.T.; BORGES, A.D.L.; BERNARDES, L.S.C.. Introdução a Modelagem molecular de fármacos no curso experimental de Química Farmacêutica. **Química Nova**, 26, 3, p.428-438, 2003.