

## Descrição do mapa farmacofórico do inibidor e da PfHT por simulação de dinâmica molecular

FONSECA, A.L.<sup>\*1</sup>; NUNES, R.R.<sup>1</sup>; COMAR JÚNIOR, M.<sup>1</sup>; ALVES, R.J.<sup>2</sup>; VAROTTI, F.P.<sup>1</sup>; TARANTO, A.G.<sup>1</sup>

### RESUMO

A malária é uma doença de importância mundial. A necessidade pela busca de novas alternativas terapêuticas é reforçada devido a crescente resistência adquirida pelo parasito aos fármacos atuais. O transportador de hexoses de *Plasmodium falciparum* (PfHT) tem apresentado suporte genético para que PfHT seja utilizado como alvo para o desenvolvimento de antimaláricos, podendo com isso inibir a absorção de glicose e eliminar os parasitas. Com o objetivo de avaliar a conformação farmacofórica do ligante previamente ancorado ao receptor antes e após a simulação de dinâmica (DM) molecular. Desta forma foi possível analisar que o processo de dinâmica molecular permitiu ao modelo estabilidade bem como características de viabilidade mais próximas a sua utilização biológica. O que demonstra a impotência de ferramentas de bioinformática em estudos de moléculas bioativas com possível potencial farmacológico

**Palavras-chave:** análise conformacional, antimalárico, modelagem molecular, malária, Amber.

### INTRODUÇÃO

A busca por novos fármacos para o combate à malária tem se tornado objeto de estudo em todo o mundo. O aumento da resistência da doença aos quimioterápicos clássicos é crescente o que aumenta a necessária e urgente busca por novos alvos moleculares<sup>1</sup>. Técnicas de modelagem por homologia foram utilizadas em estudo prévio, para elaboração do modelo

teórico da proteína transportadora de hexose do *Plasmodium falciparum* (PfHT), essencial ao seu ciclo de vida<sup>2</sup>. Essa proteína tem fundamental importância no transporte de hexose do parasita, podendo ser considerada um potencial alvo para o desenvolvimento de novos quimioterápicos contra a malária<sup>3</sup>.

A quimioterapia de parasitas da malária é limitada devido à resistência que estes conseguem estabelecer aos fármacos existentes, sendo necessário buscar novas alternativas para que seja possível um tratamento eficaz<sup>1</sup>.

O transportador de hexoses de *Plasmodium falciparum* (PfHT) tem se mostrado como importante alvo molecular<sup>4</sup>. A aplicação de ferramentas de quimioinformática tem sido utilizada na descoberta e desenvolvimento de novos fármacos, apresentando grande eficiência em várias etapas do processo de planejamento racional baseado em estrutura e no mecanismo de ação. Na ausência de dados estruturais determinados experimentalmente, os modelos tridimensionais de proteínas gerados por modelagem molecular por homologia têm oferecido um excelente suporte no planejamento de agentes farmacológicos<sup>5,6</sup>.

Dessa forma, técnicas de modelagem por homologia foram utilizadas em estudo prévio<sup>7</sup>, para elaboração do modelo teórico da proteína transportadora de hexose do *P. falciparum* (PfHT). A seguir, o ligante, *O*-(undec-10-en)-*l*-D-glucose foi ancorado ao receptor, a qual o mapa farmacofórico foi também previamente descrito. No entanto é necessário a análise da trajetória de forma a identificar a interação entre a proteína e o ligante.

O objetivo deste estudo é avaliar a conformação farmacofórica do ligante previamente ancorado ao receptor antes e após a simulação de dinâmica (DM) molecular.

### MATERIAL E MÉTODOS

A partir da sequência primária da PfHT, um modelo foi previamente construído usando o protocolo padrão usando como molde as proteínas

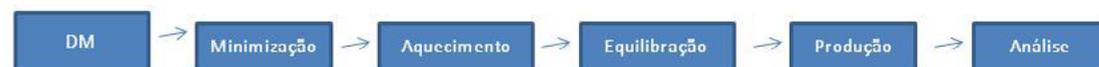
<sup>1</sup> Universidade Federal de São João del-Rei-UFSJ - Campus CCO — Laboratório de Modelagem Molecular e Bioquímica de Parasitos –Divinópolis - Minas Gerais

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

207Q e 307Q. O ligante previamente foi ancorado usando o Autodock Vina. A seguir, o modelo da PfHT foi submetido a simulações de DM utilizando o programa Amber através do campo de força *ff03*. Os parâmetros do ligante derivado de hexose foram previamente gerados pelo campo de força denominado General Amber Force Field (GAFF).<sup>8,9</sup>

Para a realização do processo de Dinâmica Molecular foram realizados os seguintes passos, apresentados no esquema 1.

Figura 1. Esquema geral das etapas de Dinâmica Molecular



O algoritmo SHAKE foi usado para limitar o movimento das ligações C-H. As velocidades foram randomicamente associadas aos átomos através de um processo de aquecimento até a temperatura de 300K em uma simulação de 160ps. A seguir, o sistema foi submetido a uma simulação de 8 ns com o passo de tempo de 0.0008 ps. Todos os cálculos foram realizados utilizando o modelo de solvatação implícita com os parâmetros descritos por Cramer e colaboradores<sup>10</sup>. O raio de corte (*cut-off*) de 14 Å foi utilizado para a interação dos átomos não ligados.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a DM, foi realizada análise da conformacional do ligante de forma a visualizar as alterações durante a simulação (Fig 2). Como pode ser observado, o ligante assume majoritariamente duas conformações onde a cadeia lateral assumem as conformações.

Figura 2. Alteração na conformação do ligante antes (A) e após (B) os cálculos de DM.

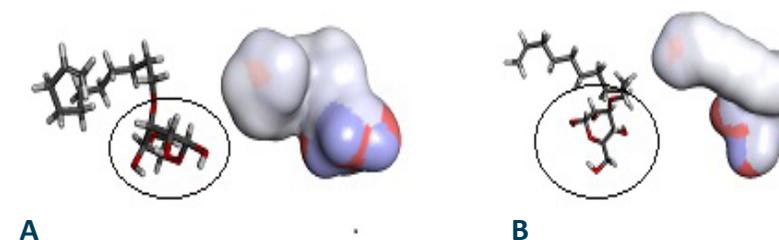


Figura 3. Visualização do Modelo e interação com ligante antes dos cálculos de DM.

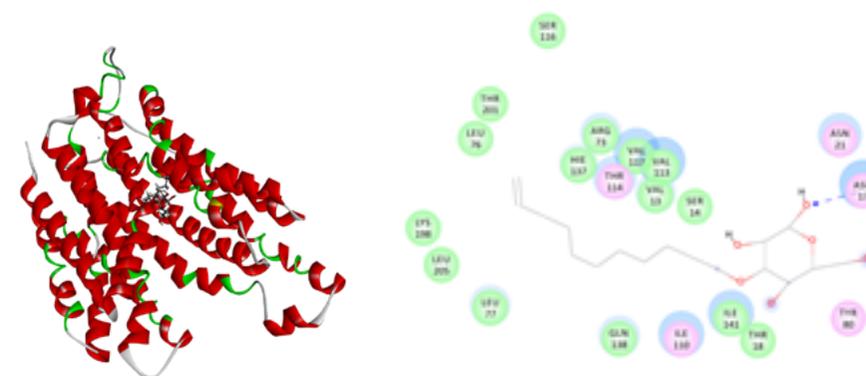
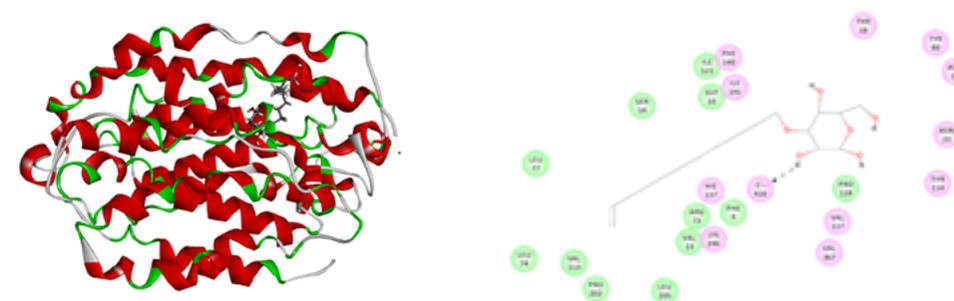


Figura 4. Visualização do Modelo e interação com ligante após os cálculos de DM.



Após o processo de dinâmica observou-se uma alteração na conformação do ligante nas regiões de ligação próximo as hidroxilas existentes. Os aminoácidos presentes nas regiões em que foram analisadas a mudança de conformação antes da DM foram: ASN304 e GLU340 e após a DM foram: ASN259, 304 e GLU340. Sendo que a conformação demonstrada em 2B é

a mais estável. A dinâmica molecular é considerada como uma ferramenta relevante e amplamente utilizada de modelagem molecular, uma vez que permite uma simulação, da evolução de um determinado sistema, a fim de avaliar suas propriedades dinâmicas, diretamente relacionadas com as interações existentes entre o mesmo com as moléculas subjacentes<sup>6</sup>. Desta forma a análise das interações entre proteína e ligante antes e após este processo permitem a visualização das características mais próximas de uma visualização, sendo a conformação em 2 B em equilíbrio.

## CONCLUSÕES

O modelo receptor PfHT será empregado na metodologia de triagem virtual *de novo design*, dando continuidade no processo de desenvolvimento racional de fármacos contra a malária. Conseqüentemente, novos compostos protótipos poderão ser racionalmente planejados, os quais poderão ser capazes de se ligarem a este receptor de forma mais efetiva e seletiva. Metodologias *in silico* são úteis por descreverem as interações intermoleculares entre o ligante e o receptor.

## REFERÊNCIAS

- (1) JOET, T.; ECKSTEIN-LUDWIG, U.; MORIN, C.; KRISHNA, S.. Validation of the hexose transporter of Plasmodium falciparum as a novel drug target. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. V.100. n° 13. 7476-7479, 2003.
- (2) 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.
- (3) 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.
- (4) SLAVIC, K.; STRASCHIL, U.; REININGER, L.; DOERING, C.; MORIN, C.; TEWARI, R.; KRISHNA, S.. Life cycle studies of the hexose transporter of Plasmodium species and genetic validation of their essentiality. **Molecular Microbiology**. V. 75 n° 6. 1402-1413, 2010.
- (5) SILVA, V. B.; SILVA, C.H..T.P.. Modelagem molecular de proteínas-alvo por homologia estrutural. **Revista Eletrônica de Farmácia**. V. 4 n° 3. 15-26, 2007.
- (6) BECKER, O.M.; MACKERELL, A.D.; ROUX, B.; WATANABE, M.; Computacional Biochemistry e Biophysics. **WVW** , 2001, 525 pp.

- (7) 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.
- (8) SILVA, G.M..Guia Foca/Linux. **GNU** 2007, 133 pp.
- (9) CASE, D.A. *et. al.*.Amber 11 User`s Manual. **University of California** 2006, 320 pp.
- (10) CRAMER, C. J.; TRUHLAR, D. G., "Implicit Solvation Models: Equilibra, Structure, Spectra, and Dynamics," *Chem. Rev.*,99, 2161-2200, 1999.