

IDENTIFICAÇÃO DE INIBIDORES DA ENZIMA TRIPANOTIONA REDUTASE ATRAVÉS DE TRIAGENS VIRTUAIS POR ACOPLAMENTO MOLECULAR E POR MODELOS FARMACOFÓRICOS PARA O TRATAMENTO DA LESHIMANIOSE

Tiago Moura Rodrigues Pereira, Odailson Paz²

1. Faculdade Maria Milza - FAMAM *tiagopereira988@gmail.com

2 Faculdade Maria Milza - FAMAM; Laboratório de bioinformática e Modelagem Molecular – LABIMM; PPGBIOTEC - UEFS

Palavras Chave: Leishmaniose, Triagem virtual, Tripanotiona redutase

Introdução

Segundo Organização Mundial de Saúde a leishmaniose é a segunda protozoose mais importante, em termos de mortalidade e prevalência. Entretanto, o repertório de fármacos disponíveis é limitado e apresenta, na maioria dos casos, baixos índices de eficácia e segurança. A leishmania no corpo humano é fagocitada e transformada na forma amastigota, que se multiplica até ser liberada na corrente sanguínea, destruindo o macrófago e avançando na infecção. Para sua proliferação, o parasito faz uso de poliaminas produzidas pelo macrófago através de uma enzima fundamental, a tripanotiona redutase (TR). Sendo assim, moléculas capazes de inibir a enzima TR, podem representar compostos promissores para o desenvolvimento de novos fármacos contra a leishmaniose.

Resultados e Discussão

Triagem virtual utilizando modelos farmacofóricos tem sido uma estratégia de sucesso no desenvolvimento de novos fármacos. Uma vez determinadas as características farmacofóricas, estas podem ser utilizadas para selecionar compostos potencialmente ativos frente ao sistema em estudo. Partindo desse princípio 5 inibidores da TR, descritos na literatura, foram selecionados para a geração dos modelos farmacofóricos. O módulo GALAHAD da plataforma SYBYL utiliza um algoritmo genético (GA) para geração das conformações das estruturas dos inibidores fornecidos, de forma a explorar a sua flexibilidade no processo de alinhamento das moléculas entre si. Essa abordagem levou a construção de 20 modelos farmacofóricos, aqueles com alto valor energético, baixa valores de sterics, H-bond, MOL_QRY e especificidade não são modelos adequados para triagem virtual e, portanto, foram descartados. Os modelos remanescentes (4 modelos) foram avaliados quanto a sua capacidade de recuperar moléculas ativas entre decoys (moléculas inativas). O desempenho de cada modelo é representado pela curva ROC (Figura 1).

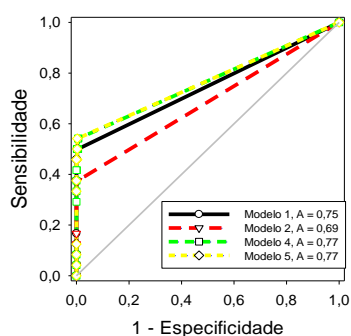


Figura1. Validação (24 inibidores; 1450 decoys) dos modelos farmacofóricos. "A" representa a área sob a curva (AUC)

Dois modelos (Modelos 4 e 5) apresentam AUC = 0,77, isso significa que possuem alta capacidade de selecionar

verdadeiros positivos e capacidade de evitar falsos positivos. Assim, esses modelos foram convertidos em modelos 3D do UNITY (Figura 2) e empregados para triagem no conjunto de compostos líder do banco de dados do Zinc database.

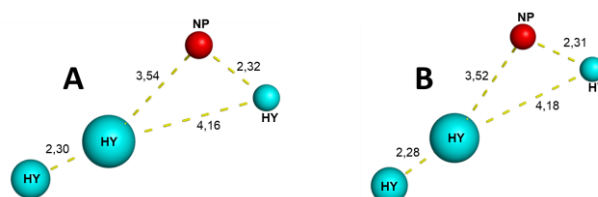


Figure2. Característica farmacofórico dos modelos UNITY 4 (A) e 5 (B). HY = centro hidrofóbico; NP = centro positivo

Os dois modelos identificaram 263 e 183 compostos, a partir de um conjunto de, aproximadamente, seis milhões de moléculas. Considerando que os modelos farmacofóricos e acoplamento molecular são complementares e podem ser integrados em sinergia para melhorar o processo de planejamento e desenvolvimento de fármacos, os compostos triados pelos modelos farmacofóricos foram avaliados utilizando estudos de acoplamento para verificar a forma do ajuste no sítio ativo da proteína tripanotiona redutase. A estrutura PDB 2JK6 (resolução = 2,95 Å) foi selecionada para os cálculos de acoplamento molecular. Os 50 compostos com menor energia de acoplamento molecular tiveram suas conformações de encaixe no sítio ativo avaliadas visualmente, foi observado que nenhum destes compostos apresentou choques estéricos de interação com resíduos da TR (Figura 3).

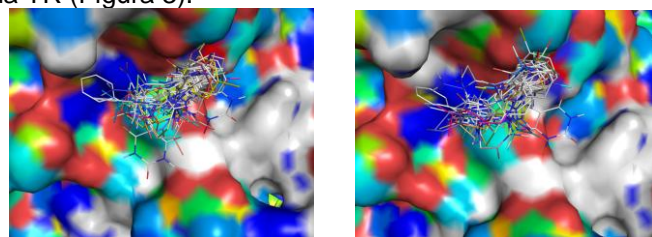


Figura3. Acoplamento molecular dos compostos resultantes da triagem virtual (usando o modelo farmacofórico 4 – esquerda e 5 – direita) no sítio ativo da estrutura da tripanotiona redutase (PDB 2JK6).

Conclusões

A integração de duas técnicas (modelagem farmacofórica e acoplamento molecular) permitiu a identificação de moléculas potencialmente ativas. Além disso, os modelos farmacofóricos apresentam características necessárias para que as moléculas triadas por esses modelos possam interagir com o sítio ativo da tripanotiona redutase, auxiliando estudos experimentais *in vitro* frente a essa enzima

Agradecimentos

- FAPESB;
- Laboratório de Bioinformática e Modelagem Molecular (LABIMM) Coordenador: Marcelo Santos Castilho.