

**SCREENING VIRTUAL DE COMPOSTOS ORIUNDOS DO SEMI-ÁRIDO BAIANO
CONTIDOS EM UM BANCO DE DADOS, NAS ENZIMAS QUITINASE E
PIROFOSFORILASE DO FUNGO *MONILIOPHTHORA* PERNICIOSA CAUSADOR
DA DOENÇA VASSOURA DE BRUXA.**

SANTOS, Ivonildo Almeida¹; TELES, Andre Lacerda Braga³; SANTOS JUNIOR,
Manoelito Coelho².

1-Bolsista PROBIC, Graduando em Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual de Feira de Santana. Email: murillo_jamais@hotmail.com.

2- Orientador, Departamento de Saúde, Universidade Estadual de Feira de Santana; Email:mcjs@oi.com

3- Participante do Programa de pós-graduação em Biotecnologia, Departamento _____, Universidade Estadual de Feira de Santana; Email:al.teles@uol.com.br

Palavras-chave: Enzima, *Moniliophthora perniciosa*.

INTRODUÇÃO.

Até meados da década de 20, o Brasil era o maior produtor de cacau do mundo. No final dos anos 80, ainda ocupava o segundo lugar, perdendo apenas para a Costa do Marfim, na África. Em 1989 a cultura do cacau brasileira sofreu uma queda em sua produção, o que, em parte, pode ser explicada pelo surgimento e desenvolvimento do fungo *Moniliophthora perniciosa* (Stahel) (Singe), responsável pela doença conhecida como vassoura-de-bruxa do cacau (PEREIRA et al., 1990). Tal enfermidade é responsável por danos que compreendem efeitos econômicos e sociais, além do impacto agrônomico imediato, fazendo com que o Brasil passe a importar o produto.

Vários compostos químicos vêm sendo testados com o objetivo de prevenir ou erradicar a vassoura-de-bruxa, porém os resultados não têm sido satisfatórios (SOBERANIS et al., 2000). Inibidores da biosíntese da parede celular bacteriana como as penicilinas e cefalosporinas, têm apresentado bons resultados no controle de infecções bacterianas. De forma similar, a parede celular dos fungos é um bom alvo para o desenvolvimento de potentes antifúngicos (GRIFFITH, TRACY, 2002). Na busca por um controle efetivo da vassoura-de-bruxa, escolheu-se a rota metabólica que leva a síntese da quitina, principal componente da parede celular fúngica (HERSCOVICS; ORLEAN, 1993).

As enzimas que compõem essa rota metabólica representam, portanto, alvos farmacológicos potenciais para o desenvolvimento de inibidores, uma vez que inibindo alguma dessas enzimas, a formação da quitina será comprometida e dessa forma a síntese da parede celular, componente crucial para o desenvolvimento do fungo (OLSEN; RODERICK, 2001). As principais enzimas envolvidas na síntese da quitina nos fungos são: frutose-6-fosfato aminotransferase (converte a frutose-6-fosfato em glicosamina-6-fosfato); 2-acetilglicerolfosfoetanolamina acetiltransferase (acetila a glicosamina 6-fosfato formando N-acetilglicosamina-6-fosfato); N-acetilglicosamina fosfomutase (converte a N-acetilglicosamina-6-fosfato em N-acetilglicosamina-1-fosfato); UDP-N-acetilglicosamina pirofosforilase (converte a N-acetilglicosamina-1-fosfato em UDP-N-acetilglicosamina) (HERSCOVICS; ORLEAN, 1993).

Uma série de recursos computacionais podem ser empregados para analisar o sítio ativo de enzimas e sugerir compostos que possam se ligar a estes sítios ativos. Dentre estes recursos está a técnica de *screening* virtual, que é tradicionalmente conduzida pela busca por ligantes inseridos em bancos de dados, que se acoplem a estruturas tridimensionais de sítios de ligação de alvos biológicos (HOLTJE et al, 2003). Sendo assim este projeto visa construir um banco de dados de estruturas químicas derivadas do semi-árido baiano para estudos de

possíveis inibidores de enzimas do fungo *Moniliophthora Perniciosa* (Sthael) (Singer) Phillips-Mora por virtual screening.

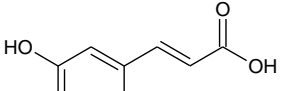
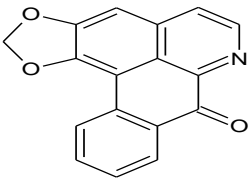
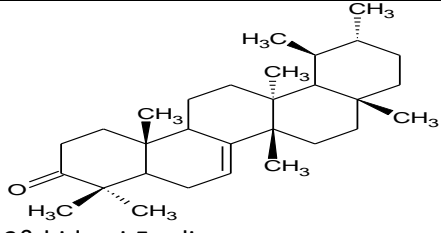
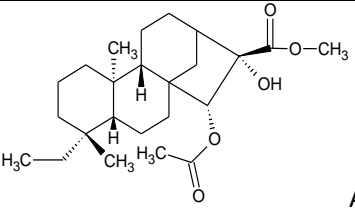
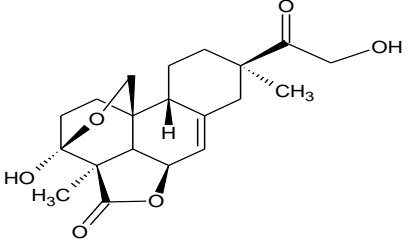
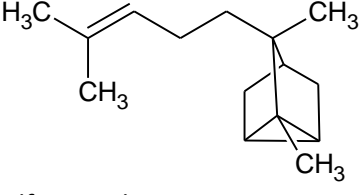
METODOLOGIA.

Primeiramente foi realizada uma revisão da literatura na busca por moléculas derivadas do semi-árido baiano, após esta etapa estas moléculas foram desenhadas através do programa ACD/ Labs (ChemSketch) (ACD version 10.00, 2006), otimizado pelo método semi-empírico, utilizando o campo de força PM6 no programa Gaussian 09W (FRISCH; FRISCH, 2003) e convertidos para o formato pdbqt, para que possam ser utilizadas em estudos de triagem de encaixe e virtual screening, técnica que visa buscar dentro de bancos de dados virtuais potenciais ligantes para um determinado alvo protéico.

RESULTADOS E DISCUSSÃO.

Estruturas de moléculas derivadas da região do semi-árido baiano foram obtidas através de uma revisão da literatura. A figura 01 ilustra alguns exemplos de diferentes grupos químicos encontrados, por exemplo, terpenos, diterpenos, flavonóides, alcalóides fenilpropanóides e cumarinas, dentro destas estruturas foram identificados compostos com a mais variada diversidade de ações farmacológicas, por exemplo, antiinflamatória, Antiespasmódica, vasodilatadora, antagonista H₂, oxidante, cicatrizante, hepatoprotetora, Cardiotônica dentre outras, além de compostos com estruturas sem ação esclarecida pela literatura. A tabela abaixo apresenta alguns exemplos de compostos encontrados.

Figura 01: Exemplos de estruturas contidas no banco de dados.

 Acido cafeico	 Liriodenina
 3β-hidroxi-5-adianeno	 Annoglabasina A
 Annomalida	 Alfa-santaleno

Estas moléculas foram desenhadas utilizando o programa ACD/ Labs (ChemSketch) ACD version 10.00, 2006), otimizado pelo método PM6 no programa Gaussian 09W (FRISCH; FRISCH, 2003) e convertidos para o formato pdbqt a ser utilizados em estudos de triagem de encaixe e virtual screening.

Atualmente o banco de dados contém cerca de 500 estruturas. O processo de construção continua visando a construção de pelo menos 1.000 estruturas químicas. No entanto os testes de acoplamento molecular seqüencial ainda não foram iniciados.

CONSIDERAÇÕES FINAIS.

Um banco de dados com 510 estruturas da região do semi-árido baiano foi construído para explorar a biodiversidade desta região brasileira. Espera-se obter uma base de pelo menos 1.000 dessas estruturas químicas. Essas moléculas serão utilizadas para ancoragem e estudos de screening virtual das enzimas que constituem a rota da quitina do fungo *M. perniciosus*. Estas metodologias são essenciais para o desenvolvimento de compostos bioativos, assim espera-se que este trabalho contribua para o desenvolvimento de uma nova alternativa para o controle da vassoura de bruxa.

REFERÊNCIA.

ACD/Chem Sketch Freeware, version 10.00.2006. **Advanced Chemistry Development, Inc**, Toronto, ON, Canadá. [homepage]www.acdlabs.com.

CASE, D. A. et al. **Amber 8: User Manual**. San Francisco: University of California, 2004, 320 p.

FRISCH, A. Eleen; FRISCH, Michael. J. **Manual Gaussian 03**. Pittsburgh,PA: Gaussian, 2003.

GIUKIETTI, Ana Maria. **Plantas da Caatinga: perfil botânico, fitoquímica e atividade biológica**. v.4 Recife: Associação Plantas do Nordeste,2006.

GRIFFITH, R.; TRACY, T. Antifungal drugs. In: WILLIAMS, D. A.; LEMKE, L. **Foye's principles of medicinal chemistry**. 5. ed. Philadelphia. Lippincott Williams & Wilkins, 2002, p. 891-903.

HERSCOVICS, A.; ORLEAN, P. Glycoprotein biosynthesis in yeast. **FASEB Journal**, n. 7, p. 540-550, 1993.

HOLTJE, H. D. et al. Protein-based Virtual Screening. In: _____ . **Molecular Modeling: Basic Principles and Applications**. Weinheim: Wiley-VCH, 2. ed. 2003. cap. 5.

OLSEN, L. R.; RODERICK, S. L. Structure of *Echerichia coli* GlmU pyrophosphorylase and acetyltransferase active sites. **Biochemistry**, n. 40, p. 1913-1921, 2001.

O. Trott, A. J. Olson, **AutoDock Vina**: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading, *Journal of Computational Chemistry* 2009.

PEREIRA, J. L. et al. First occurrence of witches' broom disease in the principal cocoa-growing region of Brazil. **Tropical Agriculture**, v. 67, n. 2, p. 188-189, 1990.

PEARLMAN, D. A. et al. Amber, a package of computer programs for applying molecular mechanics, normal mode analysis, molecular dynamics and free energy calculations to simulate the structural and energetic properties of molecules. **Computer Physics Communications**. n. 91, p. 1-41, 1995.

ROGNAN, D. Development and virtual screening of target libraries. **Journal of Physiology**. n.99, p.232-244, 2006.

SANTOS JUNIOR, M. C. **Determinação estrutural da enzima pirofosforilase do fungo *Moniliophthora perniciosa* (Sthael) (Singer) Phillips-Mora por modelagem comparativa**. 2007. 83p. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia). Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, 2007.

SOBERANIS, W. Increased frequency of phytosanitary pod removal in cocoa (*Teobroma cacao* L.) increases yield economically in eastern Peru. **Crop Protection**, v. 18, p. 667-685, 2000.