

ACOPLAMENTO MOLECULAR E MODELAGEM FARMACOFÓRICA DE DERIVADOS NUCLEOSÍDICOS CANDIDATOS A INIBIDORES DA UDP-N-ACETILGLICOSAMINA PIROFOSFORILASE DO FUNGO *Moniliophthora perniciosa*

Genilson Costa Santos¹; Manoelito Coelho dos Santos Júnior²

1. Bolsista PROBIC, Graduando em Ciências Farmacêutica, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: farm.genilsoncosta@gmail.com
2. Orientador, Departamento de Saúde, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: mc2500@gmail.com

PALAVRAS-CHAVE: pirofosforilase, acoplamento molecular, farmacofórico.

INTRODUÇÃO

A cultura do cacau marcou época na economia brasileira, sendo uma das principais fontes geradoras de divisas da década de 70. Nesta época, cerca de 90% da produção era destinada à exportação. A partir de 1989, ocorreu uma queda da produção de cacau, o que, em parte, pode ser explicado pelo surgimento e desenvolvimento do fungo *Moniliophthora perniciosa*, que é responsável por uma praga conhecida como vassoura-de-bruxa do cacau. A vassoura-de-bruxa é uma enfermidade responsável por danos que compreendem efeitos econômicos e sociais, além do impacto agrônomo imediato. Com essa praga o Brasil passou a importar cacau. Em 2000, foram importadas cerca de 71.000 toneladas de amêndoas de cacau (PEREIRA et al., 1990).

Vários compostos químicos vêm sendo testados com o objetivo de prevenir ou erradicar a vassoura-de-bruxa, porém os resultados não têm sido satisfatórios (OLIVEIRA; LUZ, 2005). Inibidores da biossíntese 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.

O desenvolvimento de inibidores para a pirofosforilase (enzima envolvida no ciclo da quitina), portanto, justifica-se no interesse socioeconômico, pois a inibição da enzima pode ser uma forma de controle da vassoura-de-bruxa, o que pode contribuir para o aumento da produtividade dos estados produtores de cacau. Foi empregando para esse fim estudos de acoplamento molecular e modelagem farmacofórica, tendo como base derivados nucleosídicos, pois estes derivados são reconhecidos molecularmente pela enzima (PENEEF et al., 2001; MARUYAMA et al., 2007).

METODOLOGIA

Os compostos que podem ser reconhecidos pela pirofosforilase apresentam em sua estrutura o grupamento nucleosídeo (PENEEF et al., 2001; MARUYAMA et al., 2007). Tendo como base que para a inibição o primeiro passo é reconhecimento molecular, foi realizada uma busca no banco de dados Zinc, que é um dos maiores bancos de estruturas para estudos de triagem virtual e acoplamento molecular (IRWIN; SHOICHET, 2005).

Utilizando o programa Marvin Beansum núcleo nucleosídeo foi construído, tendo como base azotada a uracila e a pentose sendo a desoxirribose. Para esse composto foi gerado o seu *Simplified Molecular-Input Line-Entry System* (SMILE), então esse composto foi submetido ao Zinc, utilizando como critério de seleção valor de similaridade de pelo 90%.

Os compostos encontrados nessa busca foram subsequentemente otimizados no programa Gaussian9W utilizando o método semi-empírico PM6 (STEWART, 2007).

O estudo de acoplamento molecular foi realizado no programa Autodock Vina 1.1.2, que utiliza o algoritmo *Iterated Local Search Global Optimizer* para busca global estocástica, com isso uma sucessão de passos com uma mutação e otimização local (pelo método Broyden- Fletcher-Goldfarb-Shanno [BFGS]) são conduzidas, sendo que cada passo obedece ao critério Metropolis (TROTT; OLSON 2010). Para o acoplamento foi utilizada a proteína modelo construída por Santos Junior e colaboradores (2011).

A caixa de acoplamento (*grid box*) foi definida como um cubo com centro geométrico no sítio ativo da enzima, possuindo dimensões de 18 x 14 x 16 Å, espaçamento de pontos de 1Å e coordenadas X, Y e Z de -58.323, -18.926 e 79.633, respectivamente. Os resultados foram organizados de acordo com a energia de afinidade e as geometrias foram utilizadas para a modelagem farmacofórica, sendo utilizado para isso o programa Discovery Studio 3.5.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A desoxiuridina planejada (Figura 1) foi submetida ao banco de estruturas Zinc, os resultados apontaram para 69 compostos químicos com 90% de similaridade estrutural.

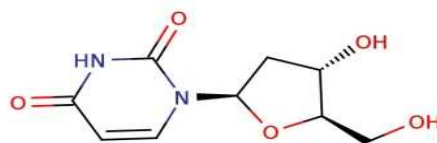


Figura 1: Estrutura da Desoxiuridina.

A base de dados composta por 69 estruturas foram acopladas no modelo da enzima pirofosforilase e classificadas com base na energia de afinidade, os complexos com melhores valores de energia podem ser vistas na tabela 1.

Tabela 1: Energia de afinidade dos dez melhores ligantes encontrados após o acoplamento molecular

Ligante	Energia de afinidade (Kcal/mol)
48	-7.1
49	-7.0
17	-6.8
64	-6.8
03	-6.8
23	-6.7
50	-6.7
62	-6.7
37	-6.7
25	-6.7

Como todas as estruturas acopladas apresentaram alguma afinidade pelo receptor (energia de afinidade negativa) todas elas serão usadas na construção de uma hipótese farmacofórica. A partir da construção dos mapas farmacofórico (figura 2) de cada uma das

estruturas. A hipótese farmacofórica servirá de parâmetro nas alterações moleculares que se seguirão com finalidade de melhoras a afinidade do ligante ao receptor alvo e aspectos farmacocinéticos, na busca de compostos que tenham as propriedades necessárias para agir como um provável fármaco no combate à vassoura-de-bruxa.

Na figura 2 está representado o mapa farmacofórico para o ligante 48, no mapa 2D (figura 2A) é possível visualizar os resíduos do sítio ativo e os respectivos pontos de interação com o ligante que são evidenciados no mapa 3D (figura 2B). Em amarelo, no mapa 3D, têm-se as interações hidrofóbicas (a Lys408 faz interações com os dois anéis do ligante, a Pro406 faz interações com os dois anéis e com a metila do açúcar, a Cys252 faz somente com a metila do açúcar, a Lys123 e Ile329 fazem interações hidrofóbicas somente com o grupamento açúcar), em vermelho o resíduo de Ser327 faz uma interação de hidrogênio do tipo doadora (LHD) com o grupo cetona do anel piridinado ligante, em cinza têm-se as zonas de exclusão.

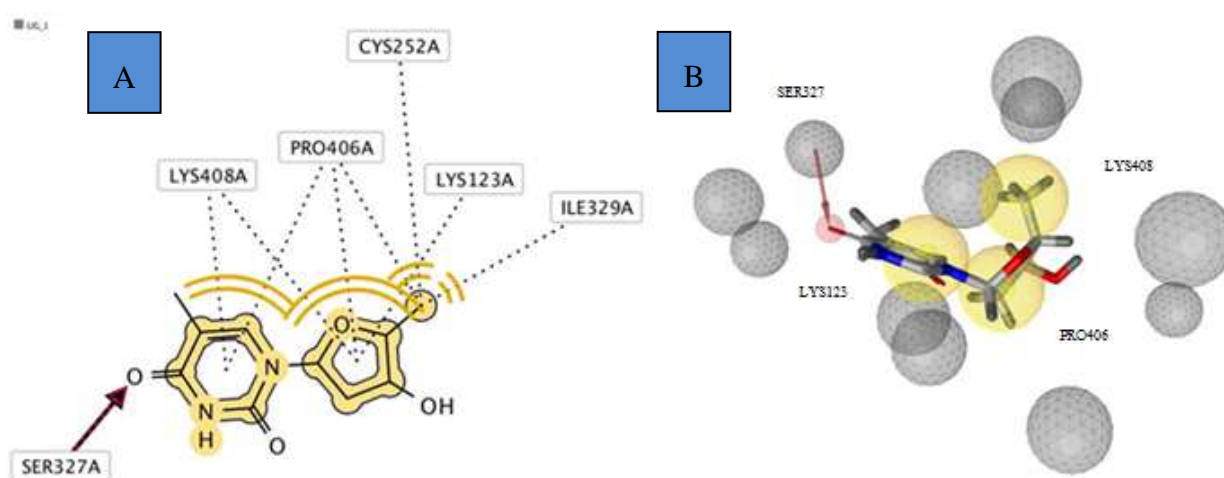


Figura 2: Mapa farmacofórico 2D e 3D para o composto 48 e a enzima pirofosforilase.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo demonstrou resultados promissores, aqui, foram apresentados os resultados para a energia de afinidade dos dez melhores compostos, no entanto, todos os compostos utilizados mostraram afinidade pela enzima. As futuras etapas do presente estudo: construção dos mapas farmacofórico para todos compostos, análise do consenso e construção da hipótese farmacofórica e as modificações moleculares no estudo das Relações Estrutura Atividade, devem direcionar os esforços na busca de possíveis inibidores da pirofosforilase e, portanto, de prováveis fármacos contra a praga conhecida como vassoura-de-bruxa. Estudos com simulações de Dinâmica Molecular com os possíveis resultados deste trabalho podem contribuir de forma significativa para uma análise mais apurada e confiável dos dados podendo, possivelmente, proporcionar resultados mais conclusivos.

REFERÊNCIAS

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.

TROTT, O.; OLSON, A. J.. 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.

OLIVEIRA, M. L.; LUZ, E. D. M. N. 2005. Identificação e manejo das principais doenças do cacaueteiro no Brasil. Ilhéus, CEPLAC/CEPEC/SEFIT. 132p.

PENEFF, C. et al. Crystal structures of two human pyrophosphorylase isoforms in complexes with UDPGlc(Gal)NAc: role of the alternatively spliced insert in the enzyme oligomeric assembly and active site architecture. *The European Molecular Biology Organization Journal*, v. 20, n. 22, p. 6191-6202, 2001.

MARUYAMA, D. et al. Crystal structure of uridine-diphospho-N-acetylglucosamine pyrophosphorylase from *Candida albicans* and catalytic reaction mechanism. *The Journal of Biological Chemistry*. v. 282, n. 23, p. 17221-17230, 2007.

IRWIN, J. J., SHOICHET B. K., ZINC – A Free Database of Commercially Available Compounds for Virtual Screening. *J. Chem. Inf. Model.*, 45 (1), p. 177–182, 2005.

STEWART. J. J. P. *J. Mol. Model.* 2007, 13, 1173-1213.

SANTOS JUNIOR, M. C.; GONÇALVES, P. A.; TARANTO, A. G.; KOBLITZ, M. G. B.; GÓES-NETO, A.; PIROVANI C. P.; CASCARDO, J. C. M.; CRUZ, S. H.; ZINGALI, R. B.; PEREIRA, G. A. G.; DIAS, C. V.; ASSIS, S. A. Purification, characterization and structural determination of UDP-N-Acetylglucosamine pyrophosphorylase produced by *Moniliophthora perniciosa*. *J. Braz. Chem. Soc.* v. 22, n. 6, p. 1015-1023, 2011.