

DESENVOLVIMENTO DE UM BANCO DE DADOS COM ESTRUTURAS QUÍMICAS DERIVADAS DO SEMI-ÁRIDO BAIANO, PARA PESQUISA DE POSSÍVEIS INIBIDORES DA ENZIMA DO FUNGOMONILIOPHTHORA PERNICIOSA TRIAGEM VIRTUAL

Ivonildo Almeida dos Santos¹; Manoelito Coelho dos Santos Junior².

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

2. Orientador, Laboratório de Modelagem Molecular, Departamento de Saúde, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: mc2500@gmail.com

PALAVRAS-CHAVE:vassoura-de-bruxa,pirofosforilase,*M. 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, atrás apenas da Costa do Marfim. 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*, responsável pela praga conhecida como vassoura-de-bruxa do cacau (Theobromacacao) (PEREIRA et al, 1990). A vassoura-de-bruxa é responsável por danos que compreendem efeitos econômicos e sociais, além do impacto agrônômico imediato, fazendo com que o Brasil passe a importar o produto (GRIFFITH, TRACY, 2002).

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 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, como alvo para se tentar inibir o desenvolvimento da praga no cacau (HERSCOVICS; ORLEAN, 1993).

As principais enzimas envolvidas na síntese da quitina nos fungos são: frutose-6-fosfato aminotransferase; 2-acetilglicerolfosfoetanolamina acetiltransferase; N-acetilglicosaminafosfomutase; UDP-N-acetilglicosaminapirofosforilase(HERSCOVICS; ORLEAN, 1993).

Diante dos aspectos apresentados, este trabalho teve como tema a construção de uma base de dados para estudos de triagem virtual visando identificar possíveis compostos com

potencial inibidor para o modelo da enzima UDP-N-acetilglicosaminapirifosforilase(UNAcP) do fungo *M. pernicioso*. Objetiva-se portanto acelerar o processo de identificação de novos compostos capazes de contribuir no controle da vassoura-de-bruxa.

METODOLOGIA

A primeira etapa do trabalho foi a realização da pesquisa bibliográfica com o objetivo de construir uma base de dados composta por estruturas químicas que foram extraídas de plantas do semi-árido. Após o desenho estrutural os compostos foram otimizados. Essa otimização foi feita através de um método semi-empírico, que é um tratamento quantitativo de propriedades moleculares com precisão, confiabilidade e custo computacional suficiente. Para essa otimização foi utilizado o método PM6, implementado no software Gaussian 09W.

O modelo utilizado neste estudo foi construído por Santos Junior *et al* (2011), o sítio ativo é bastante conservado, quando comparado a outras pirofosforilases de outros organismos eucariotes, apenas as regiões compreendidas entre os resíduos 379-384 e 403-409 não apresentaram similaridade, destaque também para o bolsão hidrofóbico formado pelos resíduos Phe381 e Phe383, pois eles não existem no modelo construído (SANTOS JUNIOR *et al*, 2011).

Para a construção da caixa de acoplamento foram utilizadas as coordenadas do produto da reação da enzima (UDP-N-acetilglicosamina). Esta coordenada foi obtida a partir da sobreposição entre a proteína cristalográfica 1JV1 e o modelo construído por Santos Jr et al (2011).A 1JV1 foi escolhida para esta etapa pois é uma das poucas estruturas cristalográficas de pirofosforilases oriundas de eucariotos e também pela melhor resolução (1,9Å) e por possuir maior similaridade (45%) com o modelo utilizado neste estudo (SANTOS JUNIOR et al, 2011). Após a sobreposição das duas proteínas, com base no alinhamento entre os sítios ativos, a estrutura da 1JV1 foi retirada e as coordenadas atômicas dos substratos da enzima permanecerem no sítio ativo do modelo construído.

A triagem virtual foi realizada pelo programa AutodockVina 1.1.2, que utiliza o algoritmo *Iterated Local Search Global Optimizer* para a otimização 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). O preparo do modelo da enzima levou em consideração a existência de imperfeições geométricas e retirando-se as moléculas de água. Por fim,

utilizando o programa AutoDock Tools 1.5.6rc2, as cargas de Koliman e Gasteiger foram adicionadas juntamente com os hidrogênios polares.

A caixa de ancoragem foi definida como um cubo com centro geométrico no UDP-N-acetilglicosamina possuindo dimensões de 18 x 14 x 16 Å, espaçamento de pontos de 1 Å e coordenadas X, Y e Z de -58.323, -18.926 e 79.633, respectivamente. Por fim, os compostos foram tabelados e organizados conforme a energia de afinidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir da busca na literatura, foram encontrados, desenhados e otimizados 556 compostos. O acoplamento molecular dos compostos encontrados no modelo da UNAcP, mostrou que cerca de 500 compostos apresentaram energia de afinidade negativa e cerca de 56 compostos apresentaram energia de afinidade positiva. O composto VE0BPA0SF apresentou melhor energia de afinidade (-9,9 kcal/mol), na Tabela 1 encontram-se os resultados para os 10 melhores compostos.

Tabela 1: Resultados encontrados para o acoplamento molecular

Compostos	Energia de afinidade (kcal/mol)
VE0BPA0SF	-9,9
VE0OUA0AF	-9,5
VE0KKA0SF	-9,4
VE0XJA0AF	-9,4
VE0ODA0SF	-9,4
VE0QQA0AF	-9,2
VE0FJA0SF	-9,2
VE0JKA0AF	-9,1
VE0RIA0AF	-9,1
VE0QUA0AF	-9,1

A Figura 1 representa o mapa de interações do composto VE0BPA0SI frente ao sítio ativo do modelo da enzima UNAcP do *M. pernicioso*. Foi possível verificar interações fracas de hidrogênio do tipo aceptora (HBA) entre os resíduos Thr115 e Arg383 com o O41 com uma distância de 4,6 Å e com o O31 com uma distância de 4,0 Å, respectivamente. Interações de hidrogênio do tipo aceptora (HBA) foram observadas entre o resíduo Ser168 e o O27 com uma distância de 4,1 Å.

Duas interações doadoras de hidrogênio (HBD) também foram verificadas entre o resíduo Gln113 e o H73 com uma distância de 3,8 Å, e com o H72 com uma distância de 5,3 Å e outra interação HBD entre o resíduo Ser168 e o H59 com uma distância de 4,3 Å (Figura 1). Foi possível verificar também interações π -cátion sendo uma entre o primeiro anel aromático e a Lys123 a uma distância de 4,4 Å e a outra entre o segundo anel aromático e o resíduo de Lys408 com uma distância de 4,1 Å.

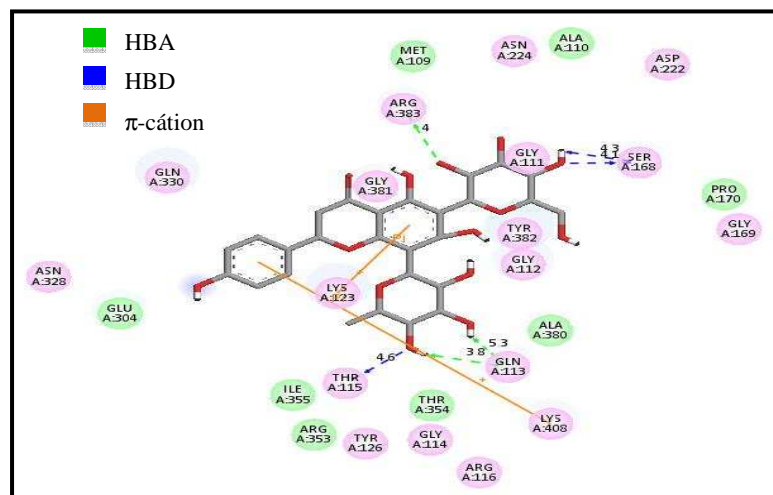


Figura 2: Mapa de interações do composto VE0BPA0SI frente ao sítio ativo da UNAcP.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Através de uma triagem virtual realizada frente ao sítio ativo da enzima pirofosforilase do *M. pernicioso* com os 556 compostos do NatProDB foi possível selecionar os 10 melhores compostos que apresentaram as menores energias de ligação tendo como menor energia o valor de -9,9 Kcal/mol referente ao composto VE0BPA0SI. Sendo assim através da construção da base de dados e dos resultados da triagem virtual foi possível verificar compostos promissores frente a UNAcP do fungo *M. pernicioso*, necessitando ainda de estudos mais detalhados com o objetivo de verificar a eficácia dos compostos apresentados por esse trabalho como potenciais inibidores do *M. pernicioso* e consequentemente da vassoura-de-bruxa.

REFERÊNCIAS

- GRIFFITH, G. W.; NICHOLSON, J.; NENNINGER, A.; BIRCH, R. N.; HEDGER, J. N. Witches' brooms and frosty pods: two major pathogens of cacao. **New Zealand Journal of Botany**, Wellington, v.41, n.3, p.423-435, 2003.
- HERSCOVICS, A.; ORLEAN, P. Glycoprotein biosynthesis in yeast. **FASEB Journal**, n. 7, p. 540-550, 1993.
- 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.
- SANTOS JUNIOR, M. C. et al. **Purification, characterization and structural determination of UDP-N-Acetylglucosamine pyrophosphorylase produced by *Moniliophthora pernicioso***. J. Braz. Chem. Soc. v. 22, n. 6, p. 1015-1023, 2011.
- 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.

TROTT, O.; OLSON, A.J. AutoDockVina: improvising the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading. **Journal of Computational Chemistry**.n.31, p. 455-461, 2010.