

# IDENTIFICAÇÃO DE POTENCIAIS INIBIDORES FRENTE À ENOIL-ACP REDUTASE DE *Plasmodium falciparum* (PfENR) POR TRIAGEM VIRTUAL BASEADO NO CONCEITO DE SIMILARIDADE QUÍMICA

**David Bacelar Costa Júnior<sup>1</sup>; Franco Henrique Andrade Leite<sup>2</sup>**

1. Bolsista PROBIC, Graduando em Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: [davidbacelar-kgb@hotmail.com](mailto:davidbacelar-kgb@hotmail.com)

2. Orientador, Departamento de Saúde, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: [frhenrique@uefs.br](mailto:frhenrique@uefs.br)

**PALAVRAS-CHAVE:** Malária, *Plasmodium falciparum*, Enoil-ACP redutase.

## INTRODUÇÃO

Dentre as protozooses, a Malária é a maior causa de morte do mundo e a principal parasitose dos países tropicais. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), cerca de 1,5 a 2 milhões de pessoas morrem de malária, sendo que as principais vítimas são crianças. Estima-se que 247 milhões de casos de malária ocorreram no mundo no ano de 2012, dos quais 91% ou 230 milhões foram devido ao *Plasmodium falciparum* (WHO, 2012). Embora em declínio, o número absoluto de casos no Brasil foi superior a 250.000 no ano de 2011 (BRASIL, 2011).

O tratamento da malária é complexo, longo, com alto perfil de toxicidade, muitas vezes ineficaz devido à reinfeção do paciente, além da resistência aos fármacos atuais em monoterapia. A alarmante resistência aos fármacos levou a OMS a prever que, na ausência de novas estratégias para o combate à malária, o número de pessoas contaminadas duplique em todo o globo até o ano 2015 (JELINEK, 2013; CHENG; KYLE; GATTON, 2012).

Uma estratégia no planejamento de fármacos contra a Malária, tal como outras doenças negligenciadas (DN) é explorar alvos terapêuticos exclusivos do parasito. Além disso, o uso de ferramentas computacionais que auxiliam na identificação de novos ligantes com base nos conceitos de similaridade química e na estrutura do alvo macromolecular podem auxiliar no planejamento de fármacos potentes e seletivos.

A diferença marcante de organização das enzimas na síntese de ácidos graxos em *Plasmodium falciparum* (FAS II, do inglês *Fatty Acid Synthases*) em comparação com o hospedeiro humano (FAS I) torna esta via um alvo potencial para o desenvolvimento de fármacos. No sistema FAS II, a enzima Enoil-ACP redutase (ENR) merece destaque, pois catalisa a principal reação do processo bioquímico de biossíntese de ácidos graxos e regula o ciclo de alongamento (ANDRADE et al, 2008; SCHRADER et al, 2013).

Com base nessas informações, juntamente com o auxílio do banco de priorização de alvos para DN (TDR Targets) (MAGARIÑOS et al, 2012) foi selecionada a enzima Enoil-ACP redutase do *P. falciparum* (PfENR), com o objetivo de identificar potenciais inibidores no banco de produtos naturais presente na plataforma ZINC<sup>12</sup> (IRWIN et al, 2012) por triagem virtual baseado no conceito de similaridade química.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Organização de bancos de dados de inibidores da PfENR:

Inicialmente foi organizado um banco de dados de inibidores da PfENR através de busca na literatura e no banco de moléculas bioativas, ChEMBLdb (GAULTON et al, 2012), no qual foram catalogados dados de atividade biológica ( $IC_{50}$  e  $K_i$ ) e a respectiva estrutura 2D. A construção 2D das moléculas referências foram feitas no Marvin Sketch 6.0 (CHEMAXON, 2013) e convertidas no formato 3D através da ferramenta Concord implementadas na plataforma Sybyl-X 1.2 (SYBYL-X 2.0, 2012). As cargas foram calculadas

através do método Gasteiger-Hückel e minimização energética através do método PM3 ambos implementados no Sybyl-X 1.2.

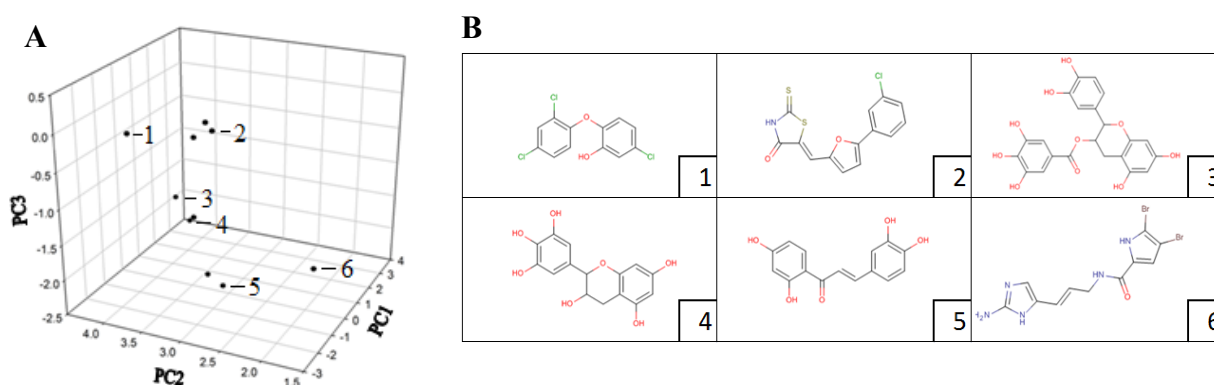
### Triagem virtual por similaridade química

A triagem virtual por similaridade química foi realizada utilizando como moldes inibidores de PfENR disponível no banco de moléculas bioativas, ChEMBL (GAULTON et al, 2012) com valor de  $K_i < 1 \mu\text{M}$  e com a maior distribuição no espaço químico. Para a identificação desse espaço e posterior seleção das moléculas moldes foi utilizado o sistema de posicionamento global, ChemGPS-NP (LARSSON et al, 2007; ROSÉN et al, 2009) com todos os inibidores catalogadas com  $K_i < 1 \mu\text{M}$ . Esse recurso possibilita uma análise de componentes principais (PC), sendo que cada PC representa características da estrutura derivada de propriedades físico-químicas para um conjunto de compostos de referência, sendo que a primeira dimensão, o PC1, representa o tamanho, forma e polarizabilidade; PC2 corresponde a aromaticidade, conjugação e propriedades relacionadas; PC3 descreve lipofilicidade, polaridade e capacidade de realizar ligações de hidrogênio (ROSÉN et al, 2009).

Após a seleção dos moldes, a triagem foi realizada através do levantamento de compostos do banco de produtos naturais da plataforma ZINC<sup>12</sup> cuja estrutura 2D apresentem pelo menos 0,35, 0,45 e 0,55 do índice de similaridade de Tanimoto (IT) às estruturas referências. Este ensaio virtual foi realizado através do módulo UNITY implementado na plataforma Sybyl-X 1.2. Os gráficos de dispersão foram construídos utilizando o pacote estatístico Sigma Plot 12.0.

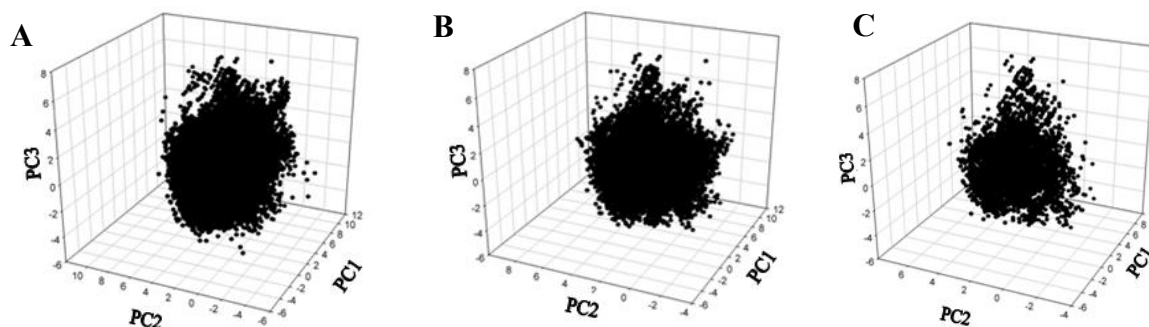
### RESULTADOS E DISCUSSÃO

As moléculas com dados de atividade biológica frente à PfENR foram obtidas do ChEMBL, em que dentre o conjunto total de inibidores (138), 12 moléculas apresentaram  $K_i < 1 \mu\text{M}$ , variando de 0,0019 até 880  $\mu\text{M}$ . Com o objetivo de identificar o espaço químico desses inibidores e garantir a melhor diversidade química (quimiotipo) foi aplicado a análise de PCs através do ChemGPS-NP, o qual foi possível selecionar 6 quimiotipos diferentes (figura 1).



**Figura 1:** Posicionamento químico global dos inibidores da PfENR com  $K_i < 1 \mu\text{M}$  obtidos do ChEMBL. **A, B** - As moléculas enumeradas correspondem as estruturas selecionadas como molde. **1** - CHEMBL849; **2** - CHEMBL227619; **3** - CHEMBL36327; **4** - CHEMBL47386; **5** - 128000; CHEMBL47386; **6** - CHEMBL397591; **B** - Estruturas 2D dos inibidores.

Para avaliar o intervalo em que o valor do índice de similaridade melhor representa o conjunto de moléculas referências selecionadas através do ChemGPS-NP, foram utilizados índices Tanimoto de similaridade de 0,35, 0,45 e 0,55, gerando conjuntos de moléculas filtradas com 70.216, 29.236 e 8.959 moléculas, respectivamente. Cada conjunto de moléculas foi analisado com base no posicionamento químico global (Figura 2).



**Figura 2:** As figuras A, B e C representam a dispersão das moléculas filtradas com índice de Tanimoto de 0,35;0,45 e; 0,55 , respectivamente.

Com base na figura 2 pode-se inferir que o conjunto de moléculas obtido a partir do filtro com IT de 0,45 apresentou uma dispersão semelhante ao apresentado pelo IT de 0,35, porém, este último, pode resultar em uma grande número de moléculas que traduzem a mesma informação química o que pode aumentar o tempo computacional em estratégias baseadas no alvo. De forma contrária, a utilização do IT de 0,5 pode resultar na exclusão de potenciais moléculas dissimilares com base em descritores 2D, mas que podem apresentar características estereo-eletrônicas importantes. Com isso, o conjunto com IT de 0,45 será escolhido para investigações futuras por descritores 3D (ex.: modelagem farmacofórica) e técnicas baseados no alvo (ex.: acoplamento molecular).

## CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos é possível concluir que a triagem virtual baseada na similaridade química pode ser uma ferramenta útil para o melhor dimensionamento de moléculas similares ao quimiotipo de moléculas ativas, podendo ser aplicadas posteriormente a diferentes técnicas baseadas no ligante e no alvo.

## REFERÊNCIAS

- ANDRADE, C. H et al. Abordagem racional no planejamento de novos tuberculostáticos: Inibidores da InhA, enoil-ACP redutase do *M. tuberculosis*. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 44, p. 2, 2008.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Dados epidemiológicos de malária, porestado. 2011.
- CHEMAXON. MarvinSketch version 5.12.1. [S.l]: ChemAxon, [2013?].
- CHENG, Q.; KYLE, D. E.; GATTON, M. L. Artemisinin resistance in *Plasmodium falciparum*: A process linked to dormancy? *Int. J. Parasitol. Drugs Drug Resist.* v. 1, p. 249, 2012.

GAULTON, Anna et al. ChEMBL: a large-scale bioactivity database for drug discovery. **Nucleic acids research**, v. 40, n. D1, p. D1100-D1107, 2012.

IRWIN, J. J. et al. ZINC: A Free Tool to Discover Chemistry for Biology. **J. Chem. Inf. Model.** 2012.

JELINK, T. Artemisinin based combination therapy in travel medicine. **Travel Med. Infect. Dis.** 2013.

LARSSON, J. et al. ChemGPS-NP: tuned for navigation in biologically relevant chemical space. **J. Nat Prod.** 70, 2007.

MAGARIÑOS, M. P et al. TDR Targets: a chemogenomics resource for neglected diseases. **Nucleic Acids Res.** 40, 2012.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. **World malaria report 2009**. Genebra, 2009. Disponível em: <[http://whqlibdoc.who.int/publications/2009/9789241563901\\_eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/publications/2009/9789241563901_eng.pdf)>. Acesso em: 12 de nov. 2012.

ROSÉN, Josefin et al. ChemGPS-NPWeb: chemical space navigation online. **Journal of computer-aided molecular design**, v. 23, n. 4, p. 253-259, 2009.

SCHRADER, F. C. et al. Novel Type Fatty Acid Biosynthesis (FAS II) Inhibitors as Multistage Antimalarial Agents. **Chem. Med. Chem.** v.8, p. 442, 2013.

SYBYL-x 2.0, Discovery Software for Computational Chemistry and Molecular Modelling, TriposInc, St. Louis, MO, USA, 2012.

WHO. World Malaria Report. Geneva, 2012.