

Modelagem molecular, *docking* de ligantes e estudos teóricos do mecanismo de catálise enzimática da diidrofolato redutase

Marcelo L. dos Santos¹(PG), Leandro de O. Porfírio¹ (IC), Luis E. Almeida¹ (PQ), Ledjane S. Barreto¹ (PQ), Nivan B. da C. Júnior^{1*} (PQ). *nbcj@ufs.br

¹Departamento de Química. Universidade Federal de Sergipe. Rosa Else. São Cristóvão. Sergipe. CEP: 49500-000. Palavras Chave: Modelagem, Docking, DHFR.

Introdução

A enzima diidrofolato redutase (DHFR) é um importante alvo no tratamento de doenças infecciosas, tais como, pneumonias e toxoplasme. Esta proteína é importante ainda no tratamento de alguns tipos de cânceres no homem. Como é um sistema encontrado tanto no humano quanto nos parasitas é fundamental entender as diferenças que existem entre estas enzimas para que se possam elaborar terapias com o mínimo de efeitos colaterais. A chave para a compreensão da estrutura enzimática, de suas funções e, das interações estabelecidas entre ligantes (drogas inibidoras) e os resíduos de aminoácidos do sítio ativo das enzimas é a modelagem molecular. Os estudos de *docking* permitem avaliar interações como ligações de hidrogênio, que na DHFR são extremamente importantes.

Neste trabalho foram modeladas, no programa CAChe Worksystem Pro Versão 6.01, as estruturas da DHFR do *Pneumocystis carinii* (Pc) -código PDB: 1DYR- e humana -1PD9-. Inicialmente foi realizada uma análise das superfícies para verificar possíveis sítios de ligação ou canais de entrada. Os resíduos de aminoácidos que compõem o sítio ativo, em conjunto com os demais, foram alinhados sequencialmente para avaliar aqueles que são conservados nos dois sistemas. Realizamos o *docking* de um conjunto de novos inibidores propostos na literatura e avaliamos as ligações de hidrogênio formadas entre estes e os aminoácidos. Fizemos uma análise da cavidade do sítio ativo e propusemos modificações nos ligantes, através da forma e da posição de grupos hidrofóbicos, resíduos ácidos e básicos, com o objetivo de aumentar a atividade e seletividade dos inibidores. Por fim, realizamos estudos do mecanismo de catálise enzimática do folato a diidrofolato e posteriormente a tetraidrofolato, através de cálculos semi-empíricos AM1 de toda a enzima, utilizando o escalonamento linear MOZYME, considerando o efeito de solvatação através do COSMO.

Resultados e Discussão

As superfícies analisadas e o possível sítio de ligação ou canal de entrada dos inibidores na enzima do Pc é apresentado na figura 01.

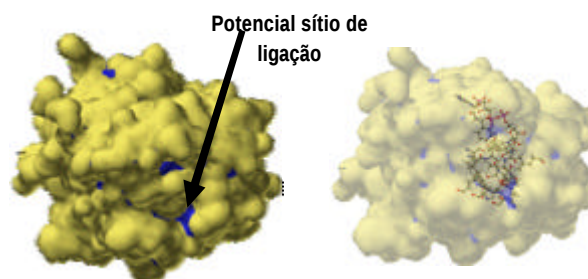
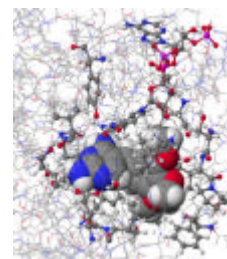


Figura 01. Mapas da superfície da DHFR do Pc. Possíveis sítios de ligação em azul.

Como pode ser observado na figura 01, da direita, a área indicada como canal de entrada corresponde a região do sítio ativo da enzima (em destaque). A figura 02 (ao lado) apresenta essa cavidade com mais detalhes.



Os cálculos semi-empíricos dos orbitais de fronteira (HOMO e LUMO) mostraram que o mecanismo sugerido na literatura¹, em duas etapas, primeiro protonação depois entrada de um íon hidreto, é o mais provável. A localização dos orbitais de fronteira é apresentada na figura 03.

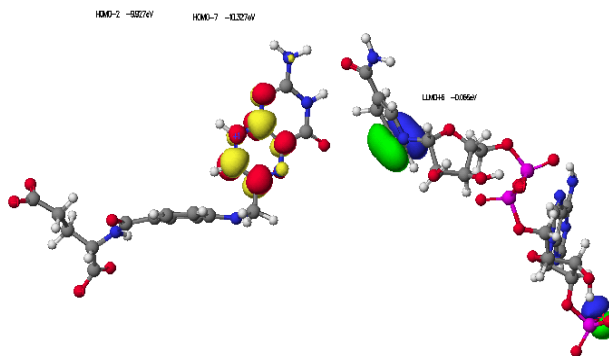


Figura 03. Folato e NADPH formando um complexo de transferência de carga na reação enzimática da DHFR.

Conclusões

Através da análise dos resíduos de aminoácidos do sítio ativo pudemos observar que somente a Ile123 na DHFR do Pc e a Val115 na DHFR do Hs devem colaborar para um ganho de seletividade, pois, os outros resíduos equivalem nas duas enzimas. Os estudos da cavidade do sítio ativo possibilitaram a

proposição destes inibidores mais ativos e/ou
seletivos.

¹ Peter, L.C.; et al. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 3418.