

Estudos *In Silico* da Seletividade Enzimática na Identificação de Novos Inibidores de PRTases de *Leishmania*

Ricardo de P. Nicoluci (PG)*, Adriano D. Andricopulo (PQ), Otavio H. Thiemann (PQ)

*nicoluci@gmail.com

Laboratório de Química Medicinal e Computacional, Centro de Biotecnologia Molecular Estrutural - CBME, Instituto de Física de São Carlos - USP

Palavras Chave: *Leishmaniose*, *PRTases*, *Ensaio Virtual*.

Introdução

A leishmaniose é uma doença endêmica que afeta 350 milhões de indivíduos em 88 países, segundo dados da Organização Mundial de Saúde. A leishmaniose visceral, forma mais grave da doença, está presente em 19 estados brasileiros com mais de 1000 municípios atingidos nas regiões norte, nordeste, centro-oeste e sudeste.¹ Com o objetivo de identificar novas opções para o tratamento da leishmaniose, estudos aprofundados da natureza, ciclo de desenvolvimento e mecanismos de defesa do parasita são fundamentais. Nesse contexto, grande atenção é dada à via de recuperação de purinas de organismos do gênero *Leishmania*, uma vez que os patógenos não possuem a via de síntese *de novo* para a replicação celular. As enzimas adenina fosforibosiltransferase² (APRT), hipoxantina-guanina fosforibosiltransferase (HGPRT) e xantina fosforibosiltransferase (XPRT) de *Leishmania* desempenham papéis importantes na via de recuperação, sendo, portanto alvos atrativos para o planejamento de novos candidatos a agentes quimioterápicos. Neste trabalho, estudos de modelagem molecular e ensaio virtual (VS, *virtual screening*) foram empregados na identificação de candidatos a inibidores das enzimas APRT, HGPRT e XPRT em uma estratégia que visa explorar o processo de reconhecimento molecular na seletividade das PRTases-alvo de *Leishmania* em relação à humana.

Resultados e Discussão

As estruturas cristalográficas das enzimas APRT e HGPRT de *Leishmania* e humana foram obtidas do *Protein Data Bank* (códigos PDB: 1MZV, 1PZM, 1ORE, 1Z7G). As estruturas das XPRT de *Leishmania* e humana foram geradas com o emprego da técnica de modelagem comparativa para a determinação com alta fidelidade das estruturas terciárias. O módulo Biopolymer do software SYBYL 7.2.4 (Tripos Inc., EUA) foi usado na preparação das estruturas, que consistiu da otimização das cadeias laterais dos aminoácidos no sítio ativo das proteínas, com a concomitante remoção dos ligantes e adição dos átomos de hidrogênio. A base de dados utilizada para o ensaio virtual foi obtida do ZINC.³ Filtros moleculares direcionados foram aplicados na seleção

de compostos e otimização da base de dados. Esta base foi então usada em vários processos sucessivos de ensaio virtual contra as PRTases de *Leishmania* para a seleção de um conjunto de candidatos a inibidores. Em uma segunda etapa, este conjunto de moléculas foi empregado contra as enzimas PRTases humana com o objetivo de gerar padrões farmacofóricos capazes de identificar seletividade para as enzimas de *Leishmania*. Um conjunto final de 20 moléculas foi selecionado e classificado para as enzimas PRTases. A Figura 1 mostra a análise comparativa de um candidato a inibidor seletivo da APRT de *Leishmania* em comparação à enzima humana.

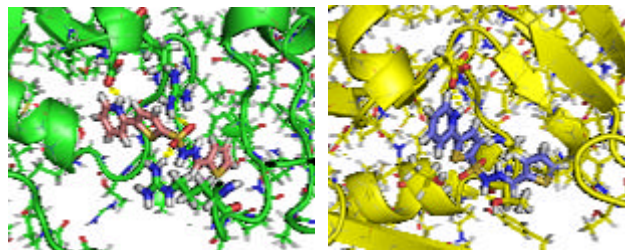


Figura 1. Um mesmo composto explora diferentes conformações para os sítios da APRT de *L. tarentolae* (esquerda) e humana (direita). A presença da arginina na posição 37 (R37) na enzima de *L. tarentolae* promove um posicionamento mais favorável ao ligante, conferindo-lhe uma boa interação e complementaridade química. Na enzima humana, o espaço da arginina é substituído por uma prolina (P20). O ligante então passa a explorar outras interações com o sítio e uma conformação alternativa, que nesta nova avaliação não proporciona uma boa determinação de energia de interação para prever atividade inibitória.

Conclusões

Com o estabelecimento de padrões farmacofóricos úteis, os estudos realizados neste trabalho permitiram a avaliação da seletividade enzimática no processo de identificação de novos candidatos a inibidores das PRTases de *Leishmania*.

Agradecimentos

FAPESP, CAPES

¹World Health Organization, Drugs against parasitic diseases: R&D methodologies and issues. **2003**

²Silva, M; Silva, C. H. T. P.; Iulek, J.; Oliva, G.; Thiemann, O. H.; *Biochim. Biophys. Acta* **2004**, 1696, 31.

³Irwin, J. J.; Shoichet, B. K. *J. Chem. Inf. Model.* **2005**, 45, 177.