

Criação de Um Modelo Farmacofórico Para a Triagem *In Silico* de Inibidores da Gliceraldeído-3-Fostato Desidrogenase de *Trypanosoma cruzi*

Rafael V. C. Guido¹ (PG)*, Alexander Hillerbrecht² (PG), Adriano D. Andricopulo¹ (PQ)
Gerhard Klebe² (PQ), Glaucius Oliva¹ (PQ)

rvcguido@ifsc.usp.br

1-Centro de Biotecnologia Estrutural e Molecular – CBME, Instituto de Física de São Carlos – USP, São Carlos, Brasil

2-Institut für Pharmazeutische Chemie – Philipps Universität, Marburg, Deutschland

Palavras Chave: GAPDH, ensaio virtual, inibidores enzimáticos

Introdução

A doença de Chagas, causada pelo parasita *Trypanosoma cruzi*, é um dos problemas médico-sanitários mais importantes na América Latina. A principal via bioquímica de obtenção de energia do parasita é a glicólise. Uma das enzimas envolvidas nessa via, a gliceraldeído-3-fostato desidrogenase (GAPDH), foi selecionada como alvo molecular atrativo para a descoberta de novos agentes quimioterápicos. O ensaio virtual é uma estratégia que envolve a análise de grandes bases de dados de compostos através de métodos computacionais com o objetivo de identificar um subconjunto de compostos que apresentem afinidade por um alvo molecular específico. Um modelo farmacofórico foi criado a partir da análise de regiões no sítio de ligação da enzima susceptíveis a interações com ligantes. No presente trabalho, esse modelo foi empregado no processo de triagem *in silico* em larga escala com o objetivo de selecionar ligantes capazes de representarem novos inibidores da enzima GAPDH de *T. cruzi*.

Resultados e Discussão

A análise das estruturas cristalográficas da GAPDH de *T. cruzi* e humana revelou diferenças estruturais importantes para o planejamento de novos inibidores seletivos para a enzima do parasita. A base de dados utilizada no ensaio virtual foi a “drug-like” da base de dados ZINC (<http://blaster.docking.org/zinc>). Uma série de filtros hierárquicos envolvendo a pré-seleção de grupos químicos especiais (grupamento âncora, busca 2D) foi aplicada nesta base de dados. Um modelo farmacofórico foi empregado na triagem e seleção de moléculas que apresentassem características químicas importantes para a interação com o sítio ativo da enzima. Para a obtenção do modelo farmacofórico, uma análise das regiões de interação favorável foi realizada com os programas GRID e DrugScore. Através desta análise, conhecida como *Hot Spots* (Figura 1), sondas apropriadas mapearam os campos estéreos, hidrofóbicos e doadores/aceptores de ligação de hidrogênio presentes no sítio de ligação. O modelo farmacofórico

derivado e utilizado como filtro para a triagem *in silico* apresentou as seguintes características: i) regiões no espaço favoráveis para interação com grupos aniônicos; ii) superfície de interação do oxigênio da cadeia lateral do Asp²¹⁰ capaz de aceitar ligação de hidrogênio iii) superfície de interação do NH da cadeia principal da Lys²⁰⁹ capaz de doar ligação de hidrogênio (Figura 2). Nas etapas posteriores, processos de minimizações com diferentes funções de pontuação foram utilizados para avaliar as conformações que satisfiziam as restrições impostas pelo modelo farmacofórico. O método de pontuação por consenso e a análise visual dos resultados foram utilizados para identificar moléculas que apresentam boa complementaridade com o sítio de ligação. Um conjunto de 14 compostos foi selecionado para avaliação da atividade biológica.

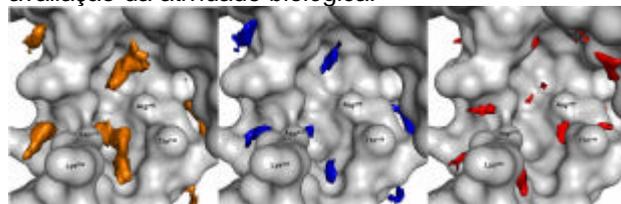


Figura 1. Análise de *Hot Spots* do sítio de ligação da GAPDH de *T. cruzi*. Sondas C.3 (laranja), N.am (azul) O.2 (vermelho).

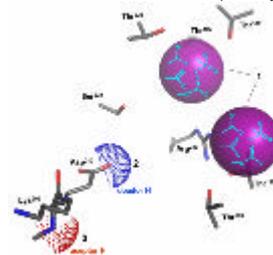


Figura 2. Modelo farmacofórico utilizado para busca 3D. 1- presença de grupo âncora 2- presença de um grupo doador de ligação de hidrogênio 3- presença de um grupo aceptor de ligação de hidrogênio.

Conclusões

A estratégia utilizada consiste na aplicação de filtros hierárquicos sucessivos estabelecidos de acordo com as propriedades do sítio de ligação, assim somente são selecionadas moléculas da base de dados que apresentam características importantes para o estabelecimento do processo de reconhecimento molecular. A aplicação com sucesso desse método resultou na seleção de 14 candidatos a inibidores da enzima alvo do parasita.

Agradecimentos

FAPESP