

Planejamento Baseado na Estrutura do Receptor de Novos Inibidores da Aldolase de *Trypanosoma brucei*

Leonardo L. G. Ferreira (PG)^{1,*}, Rafaela S. Ferreira (PG)²,
Otavio H. Thiemann (PQ)¹, Adriano D. Andricopulo (PQ)¹
(*leonardo@ifsc.usp.br)

¹Laboratório de Química Medicinal e Computacional, Centro de Biotecnologia Molecular Estrutural, Instituto de Física de São Carlos – Universidade de São Paulo; ²Departamento de Química Farmacêutica, Universidade da Califórnia – São Francisco

Palavras Chave: Aldolase, *T.brucei*, Ensaio Virtual, Inibidores.

Introdução

A tripanossomíase Africana, causada pelo parasita *Trypanosoma brucei*, é uma doença negligenciada grave que atinge milhões de pessoas no continente africano. A carência de alternativas terapêuticas úteis é notável, o que leva ao agravamento da situação, principalmente nas áreas mais carentes, e sugere uma urgência imediata por novos fármacos seguros e eficazes para o tratamento desta parasitose. Neste contexto, a enzima aldolase de *T. brucei*, essencial na degradação da glicose, tem sido identificada como alvo molecular importante para o planejamento de inibidores enzimáticos. Dentre as estratégias utilizadas neste trabalho, está o planejamento baseado na estrutura do receptor para a identificação de inibidores seletivos da enzima alvo, através da integração de métodos computacionais e experimentais, com destaque para o ensaio virtual (VS, do inglês *Virtual Screening*).^{1,2}

Resultados e Discussão

Primeiramente foram estabelecidos protocolos de expressão e purificação da enzima aldolase, bem como foi padronizado ensaio cinético adequado para avaliação de constantes enzimáticas e propriedades inibitórias de candidatos a ligantes. Constantes cinéticas como K_M (Michaelis-Menten) e V_{max} foram determinadas experimentalmente para a enzima. O processo de ensaio virtual foi conduzido através da docagem molecular de 450.000 compostos da base de dados ZINC empregando-se a estrutura cristalográfica da aldolase (PDB ID 1F2J). Três estratégias foram utilizadas na realização dos ensaios, com o uso dos programas computacionais Dock, FlexX e Gold. A seleção dos compostos mais promissores baseou-se em critérios como a sua posição na classificação de cada método, e a análise das interações intermoleculares complementares entre ligantes e enzima alvo. A conformação e o posicionamento de cada composto no sítio ativo também foram avaliados em comparação com a conformação cristalográfica do substrato em complexo com a enzima. A realização

de ensaios de validação com inibidores conhecidos demonstrou a capacidade do método em classificar apropriadamente esses inibidores entre as primeiras posições. Após a análise dos resultados obtidos com os três programas, foi constatada a tendência de que moléculas carregadas negativamente se encontram melhor classificadas. Compostos com esta característica, também realizam um maior número de interações de hidrogênio com a enzima e adotam conformações semelhantes à conformação do substrato.

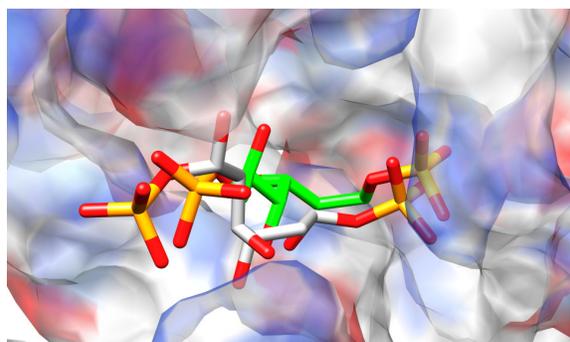


Figura 1. Conformações do substrato, frutose bifosfato (verde), e do inibidor utilizado como controle, hexitol bifosfato (cinza), no sítio ativo da aldolase.

Conclusões

Considerando os resultados obtidos experimentalmente com a expressão e purificação da enzima e os resultados alcançados no ensaio virtual, foram identificados requerimentos estruturais importantes para o reconhecimento molecular entre ligantes e a enzima alvo, o que contribuirá para o planejamento de novos inibidores da aldolase de *T. brucei*.

Agradecimentos

FAPESP, CAPES

¹Guido, R. V. C.; Oliva, G.; Andricopulo, A. D. *Cur. Med. Chem.* **2008**, *15*, 37.

²Andricopulo, A. D.; Salum, L. B.; Abraham, D. J. *Curr Top. Med. Chem.*, **2009**, *9*, 771.