

Dinâmica molecular do complexo heme-cloroquina na enzima lactato desidrogenase de *Plasmodium falciparum*

Wilian Augusto Cortopassi¹ (IC), Aline Alves Oliveira² (PG), Ana Paula Guimarães² (PG), Magdalena Nascimento Rennó³ (PQ), Antoniana Ursine Krettl⁴ (PQ) e Tanos Celmar Costa França^{2*} (PQ)

¹Departamento de Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro (PUC-Rio), Rua Marquês de São Vicente 225, Gávea, CEP 22451-045, Rio de Janeiro – RJ, Brasil.

²Laboratório de Modelagem Aplicada a Defesa Química e Biológica (LMDQB), Seção de Engenharia Química, Instituto Militar de Engenharia (IME), Praça general Tibúrcio 80, Urca, CEP 22290-270, Rio de Janeiro – RJ, Brasil.

³Curso de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rua Aluísio da Silva Gomes 50, Granja dos Cavaleiros, CEP 27930-560, Macaé – RJ, Brasil.

⁴Laboratório de Malária, Instituto René Rachou, FIOCRUZ, Av. Augusto de Lima 1715, Barro Preto, CEP 30190-002, Belo Horizonte – MG, Brasil.

*E-mail: tanos@ime.eb.br

Palavras chave: Ancoramento Molecular, Dinâmica Molecular, Cloroquina, PflDH

Introdução

A malária é uma doença endêmica causada por protozoários do gênero *Plasmodium* e infecta atualmente cerca de 243 milhões de pessoas no mundo resultando em mais de 800.000 mortes por ano¹. Nos últimos anos, diferentes fármacos têm sido estudados a fim de se propor uma quimioterapia mais eficaz contra essa doença. Neste contexto, estudos *in silico* possibilitam compreender os mecanismos de ação dos fármacos, permitindo um planejamento racional de substâncias mais promissoras para o tratamento da malária. Read et al² mostraram que a cloroquina, um fármaco amplamente utilizado no tratamento da malária, forma um complexo dimérico com grupos heme oriundos da degradação da hemoglobina pelo parasita e que esse complexo é capaz de inibir a enzima lactato desidrogenase do *P. falciparum* (PflDH). Com o objetivo de investigar essa hipótese foram realizados, neste trabalho, estudos por dinâmica molecular (DM) a fim de se avaliar a estabilidade do complexo heme-cloroquina na PflDH. As moléculas de cloroquina foram parametrizadas com o programa PRODRG³ e o complexo foi construído e ancorado na entrada do sítio ativo da PflDH (código PDB⁴ 1LDG) através do programa Molegro Virtual Docker (MVD)⁵. A DM foi realizada com o programa GROMACS 4.0.7⁶ com otimização do sistema até 1 Kcal/mol.Å e utilizando o campo de forças 53a6, que já possui parâmetros para o grupo heme. Após otimização, o sistema foi submetido a 500 ps de DM com restrição de posição seguidos por 6,000 ps sem restrição.

Resultados e Discussão

A partir de estudos de ancoramento molecular foi possível identificar interações entre o complexo e a PflDH, através da formação de ligações hidrogênio com os resíduos Lys192, Thr101, Ala244 e His243. Esse sistema foi o ponto de partida para as etapas

de DM. A Figura 1 mostra a variação do Desvio da Raiz Média Quadrática (DRMQ) para a PflDH e o complexo bem como o comportamento dinâmico do mesmo ao longo dos 6.0 ns de DM. Como pode ser observado o complexo permaneceu estável e bem ancorado na entrada do sítio ativo.

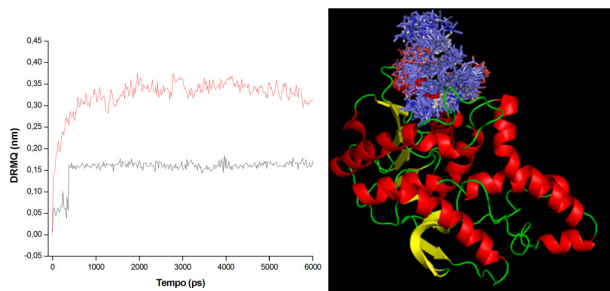


Figura 1. Gráfico de DRMQ (Linha vermelha = proteína; linha preta = complexo) e quadros de DM do complexo heme-cloroquina na entrada do sítio ativo da PflDH. Os quadros da proteína foram omitidos para maior clareza.

Conclusões

Os resultados dos estudos por DM sugerem que o complexo heme-cloroquina tem conformação energética estável na entrada do sítio ativo da PflDH podendo permanecer ali bloqueando o acesso dos substratos. Esse resultado além de corroborar com os resultados experimentais obtidos por Read et al², também sugere um possível mecanismo de ação para o complexo heme-cloroquina na inibição da PflDH.

Agradecimentos

FAPERJ, CNPq, IME, PUC-Rio, Fundação Estudiar

¹WHO. World Malaria Report 2009. Disponível em: http://www.who.int/malaria/world_malaria_report_2009/en/index.html

²Read, J.A. et al. *J. Biol. Chem.* **1999**, 274, 10213.

³A. W. Schuettelkopf and D. M. F. van Aalten. *Acta Crystallographica D60*, 2004, 1355–1363.

⁴<http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>

⁵Thomsen, R.; Christensen, M.H. *J. Med. Chem.* **2006**, 49, 3315.

⁶Spoel, D. et al. University of Groningen, **2001**. 268p.