

Estudo Teórico de um Composto Bifosfanato como Inibidor da Enzima GAPDH de *Trypanosoma cruzi*

José Rogério de A. Silva¹ (PG), Luana C. Grangeiro¹ (IC), Helton J. Wiggers³ (PG), Carlos A. Montanari³ (PQ), Jerônimo L. Silva^{1,2} (PQ), Cláudio N. Alves^{1*} (PQ)

¹Laboratório de Planejamento e Desenvolvimento de Fármacos, Instituto de Ciências Exatas e Naturais, Universidade Federal do Pará, Belém, PA, Brasil. *nahum@ufpa.br

²Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará, Belém, PA, Brasil.

³Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, SP, Brasil.

Palavras Chave: Doença de Chagas, GAPDH, Inibidor, Docagem Molecular, Dinâmica Molecular, QM/MM.

Introdução

A enzima gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (GAPDH) é uma proteína-chave na via glicolítica de tripanosomatídeos¹. Portanto, é um alvo importante que vem recebendo considerável atenção no desenvolvimento de novos inibidores. Neste estudo, métodos teóricos e computacionais, como: *docking molecular*, dinâmica molecular (DM) e o método híbrido QM/MM, foram utilizados para elucidar as interações e o mecanismo de ação do potente inibidor da GAPDH de *T. cruzi*: ácido 4-butilfenil-amino-metileno-fosfônico, denominado ácido bifosfônico.

Resultados e Discussão

A estrutura cristalográfica da enzima GAPDH de *T. cruzi* utilizada nos estudos de *docking molecular* e simulações de DM com o método QM/MM foi obtida do *Protein Data Bank* (1QXS). O *docking* foi realizado com o programa AutoDock Vina². Além disso, uma análise QM/MM foi realizada para correlacionar as energias obtidas nas conformações geradas pelo *docking*. Finalmente, as simulações de DM com QM/MM foram realizadas com o programa DYNAMO³. O inibidor ácido bifosfônico foi tratado com o método semi-empírico AM1, enquanto o resto do sistema (proteína, cofator e moléculas de água) foram tratados com o campo de força OPLS-AA e TIP3P durante 2ns.

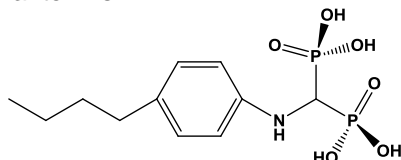


Figura 1. Estrutura 2D do inibidor ácido bifosfônico.

A docagem do ácido fosfônico realizada no sítio competitivo na presença do cofator NAD⁺ levou a obtenção de 2 conformações de menor energia que variam entre -31,38 e -33,05 kJ/mol. Os grupos fosfanatos do inibidor ocuparam o mesmo sítio de ligação do fosfato inorgânico, conservando interações com os grupos polares dos resíduos Ser224, Thr226, Ser247 e Arg249

Com o objetivo de verificar se as interações encontradas na docagem foram conservadas durante a DM com QM/MM, uma análise residual foi realizada para os últimos 500ps de DM, onde tais interações foram quantificadas.

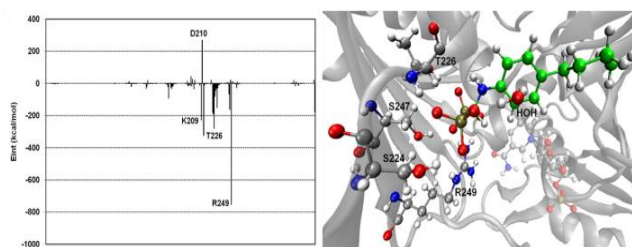


Figura 2. (a) Análise de decomposição residual. (b) Conformação estruturas do complexo enzima-inibidor após 2ns de DM.

As interações entre os grupos polares dos resíduos citados anteriormente foram conservadas e quantificadas. Tais interações mostraram-se importantes por contribuírem para a estabilização dos grupos fosfanatos pertencentes ao inibidor.

Conclusões

Os métodos de *docking molecular*, DM e QM/MM foram realizados para elucidar as interações e o mecanismo de ação do inibidor ácido bifosfônico. A simulação de DM com o método híbrido QM/MM foi de grande importância para a estabilização e quantificação das interações entre enzima e inibidor. Tais resultados poderão contribuir para o planejamento de novos e mais potentes inibidores da enzima GAPDH de *T. cruzi*.

Agradecimentos

Os autores agradecem as Agências CNPQ e CAPES.

¹Maya, J. D.; Cassels, B. K.; Vásques, P. I. Ferreira, J.; Faundez, M.; Galantini, N.; Ferreira, A.; Morello, A. *Comp. Biochem. Physiol. Part A* **2007**, *146*, 601.

²Trott, O.; Olson, A. J. *J. Comp. Chem.* **2009**, *31*, 455.

³Field, M. J. *A Practical Introduction to the Simulation of Molecular Systems* Cambridge, **1999**.