

## Metodologias computacionais como ferramentas para a previsão estrutural da enzima Diidrofolato Redutase do *Toxoplasma gondii*

Antônio L. S. V. Costa<sup>1</sup> (IC)\*, Nivan B. da C. Junior<sup>2</sup> (PQ), Marcelo L. dos Santos<sup>1</sup> (PQ)  
\*antonio\_051@hotmail.com

<sup>1</sup>Universidade Federal de Sergipe, Campus Prof. Alberto Carvalho, Itabaiana-SE. CEP: 49500-000. <sup>2</sup>Universidade Federal de Sergipe, Cidade Universitária Prof. José Aloísio de Campos, São Cristóvão-SE. CEP: 49100-000.

Palavras Chave: Modelagem computacional, DM, DHFR

### Introdução

Estruturas de proteínas são importantes para a compreensão de fenômenos biológicos a nível molecular<sup>1</sup>. Na inexistência de modelos experimentais, métodos *in silico* tem sido empregados com sucesso para elucidação destas, entre eles, modelagem por homologia, *threading* e *free-modelling*<sup>2</sup>. Para que o modelo criado possa ser utilizado com confiança, dentro dos limites de cada técnica empregada<sup>3</sup>, é necessário validá-lo através de análises estereoquímicas, semelhanças com o alvo e simulações de Dinâmica Molecular<sup>4</sup> (DM). Cada vez mais relatos de sucesso na modelagem *in silico* de estruturas protéicas são reportados na literatura<sup>2</sup>, sendo dois importantes trabalhos voltados para a obtenção da estrutura da enzima Diidrofolato Redutase (DHFR)<sup>5,6</sup>, que catalisa a síntese de folatos e é importante na replicação celular, tanto humana quanto de parasitas oportunistas. Apesar da existência destes últimos estudos referentes ao desenvolvimento de inibidores da DHFR, os modelos estruturais não foram disponibilizados pelos autores. Sendo assim, no presente trabalho, construímos e avaliamos diferentes modelos *in silico* para a DHFR do *Toxoplasma gondii* (*tg*), um parasita que afeta principalmente regiões subdesenvolvidas e, que até pouco tempo, não possuía este importante alvo enzimático resolvido experimentalmente<sup>7</sup>.

### Resultados e Discussão

Por meio de 6 servidores *online* (LOOP, 3D-JIGSAW, I-TASSER, SWISS-MODEL, BIOSERF e MODWEB) 18 modelos computacionais para a DHFR do *tg* foram elaborados e selecionados, com base nos melhores escores apresentados por cada servidor. O "traço" dos carbonos alfa (C<sub>α</sub>), o enovelamento protéico e a estereoquímica das 18 estruturas foram avaliados por análises visuais, no programa gráfico *PyMol*, e empregando o servidor *online MolProbity*, que permitiu verificar comprimentos e ângulos de ligação, proximidades, rotâmeros e os ângulos *phi* e *psi* das ligações peptídicas, através do gráfico de *Ramachandran*, sendo, ao final desta etapa, selecionados 5 modelos que apresentaram menores desvios dos valores

esperados para as estruturas primária e secundária da DHFR do *tg*. Para avaliar a estabilidade em água destes 5 modelos, realizamos estudos de DM<sup>4</sup> com o programa Gromacs, empregando o campo de força OPLS. Realizadas as etapas de adição de íons e solvente, minimização de energia e equilíbrio do sistema, executamos a DM. Com 2 ns de simulação, identificamos que 4 modelos tiveram acentuadas modificações nos valores de desvio médio quadrático (RMSD) dos C<sub>α</sub> e raio de giro (Rg). Apenas o modelo "Loop04", obtido no servidor LOOP, apresentou estabilidade e teve seu refinamento realizado com 10 ns de simulação. Recentemente, com o depósito da estrutura da DHFR do *tg*, resolvida experimentalmente por Cristalografia<sup>7</sup> (código PDB: 4EIL), decidimos compará-la com o modelo computacional "Loop04", empregando o servidor *SuperPose*. Os valores de RMSD obtidos nesta comparação foram de 2,23 Å para os C<sub>α</sub>, 2,32 Å para o *backbone* e 2,91 Å para outros átomos. A partir das superposições e análises visuais, identificamos que o modelo *in silico* apresenta uma grande semelhança estrutural com o experimental, divergindo principalmente nas regiões de *loops* e no C-terminal, menos importantes em termos de atividade enzimática.

### Conclusões

Considerando as limitações das metodologias computacionais empregadas, conseguimos elaborar e validar um modelo protéico para a enzima DHFR do *tg*, importante alvo enzimático para o planejamento de novas drogas antitoxoplasmose, que pode ser útil em estudos de *docking* e QSAR, principalmente quando modelos experimentais são ausentes ou não publicados<sup>5,6</sup>.

### Agradecimentos

NIPPEC/UFS e PIBIC/CNPq

<sup>1</sup> Filho, O. A. S. e Alencastro, R. B. *Química Nova*. **2003**, 253-259.  
<sup>2</sup> Werner, T.; Morris, M. B.; Dastmalchi, S.; Church, W. B. *Advanced Drug Delivery Reviews*. **2012**, 323-343. <sup>3</sup> Cavasotto, C. N.; Phatak, S. S. *Drug Discovery Today*. **2009**, 676-683. <sup>4</sup> Fan, H.; Mark, A. E. *Protein Science*. **2004**, 211-220. <sup>5</sup> Popov, V. M.; Yee, W. A.; Anderson, A. C. *PROTEINS: Structure, Function, and Bioinformatics*. **2007**, 375-387. <sup>6</sup> Tawari, N. R.; Bag, S.; Degani, M. S. *Current Pharmaceutical Design*. **2011**, 712-751. <sup>7</sup> Sharma, H.; Landau, M. J.; Vargo, M. A.; Spasov, K. A. Anderson, K. S. *Biochemistry*. **2013**, 7305-7317.