

# ESTUDO POR MODELAGEM MOLECULAR DA INTERAÇÃO DE DIALQUILFOSFORILIDRAZINAS COM A HEXOCINASE DE LEISHMANIA BRAZILIENSIS

Lucas T. Barcellos<sup>1</sup> & Carlos Mauricio R. Sant'Anna<sup>2</sup>

1. Bolsista PIBIC, Discente do Curso de Química, DEQUIM/ICE/UFRRJ; 2. Professor do Departamento de Química, ICE/UFRRJ.

Palavras-chave: *Leishmania*; cálculo semi-empírico; hexocinase.

## Introdução

A leishmaniose é uma doença causada por protozoários parasitas pertencentes ao gênero *Leishmania* [WHO, 2015]. O tratamento da doença é simples, mas demorado [Barrett & Gilbert, 2002] e, além disso, o número de fármacos disponíveis no mercado é pequeno, de alto custo e causam uma série de efeitos colaterais. A maioria dos países onde a doença é endêmica é pobre, portanto o acesso ao medicamento se torna difícil e descontínuo, o que torna a leishmaniose uma doença difícil de combater [WHO, 2011].

A descoberta de novos fármacos mais eficazes e com menos efeitos colaterais pode trazer avanços ao combate da doença. O grupo de síntese de organofosforados da UFRRJ, em busca de compostos com atividade leishmanicida, sintetizou algumas moléculas que possuem atividade ( $IC_{50}$ ) contra a *L.braziliensis* [da Matta *et al.*, 2015]. Na ausência de informações experimentais sobre exatamente onde os compostos atuam, uma alternativa é o uso de estudos teóricos envolvendo várias enzimas e, por meio de comparações com os resultados de atividade disponíveis, encontrar o local provável de atuação dos compostos. A modelagem molecular ajuda neste estudo, porque pode prever o modo de interação de substâncias bioativas com o seu alvo bioquímico.

Vários métodos de modelagem molecular foram desenvolvidos e que podem ser aplicados no estudo de compostos bioativos [SANT'ANNA *et al.*, 2009]. Neste estudo, utilizamos os métodos de ancoramento molecular (*docking*) e cálculos semi-empíricos. Como as moléculas estudadas contêm o grupo fosforamidoato, podemos propor que há algum tipo de competição entre estas moléculas e os substratos de enzimas da via das pentoses fosfatos ou da glicólise, cujos substratos contêm grupos fosfato.

## Metodologia

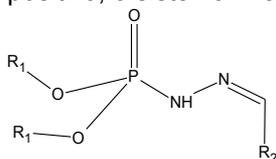
Foram selecionadas 15 enzimas da via das pentoses fosfatos e da via da glicólise de *L. braziliensis*, para as quais foram criados modelos comparativos com auxílio do servidor SwissProt. Os modelos foram usados em um estudo de *docking* com todos os ligantes, utilizando-se o programa GOLD (CCDC). A hexocinase foi a enzima que obteve os melhores resultados, comparando com as atividades experimentais [Matta *et al.*, 2015]. Com os resultados obtidos a partir do *docking* na hexocinase, prepararam-se os arquivos para serem submetidos ao cálculo semi-empírico. Primeiramente foram feitos dois recortes ao redor do ligante, com raios de 10 Å e 15 Å, com o auxílio do programa Swiss PDB-Viewer [Guex *et al.*, 1997]. Posteriormente, os ligantes foram separados dos seus sítios e obtiveram-se arquivos distintos para os sítios vazios. Em cada seleção os amino ácidos de cada sítio foram acrescentados aos demais para que todos os complexos e todos os sítios vazios tivessem os mesmos resíduos de amino ácidos. Obteve-se, então, um arquivo para cada complexo, o arquivo do sítio vazio e um arquivo para cada ligante. A minimização da energia através de cálculos semi-empíricos com o método PM6 [Stewart, 2007] foi feita através do programa MOPAC 2012 [Stewart Computational Chemistry], obtendo-se os valores de entalpia de cada sistema. A partir destes valores, a entalpia de interação ( $\Delta H_{int}$ ) foi calculada pela equação 1:

$$\Delta H_{int} = \Delta H_{(complexo)} - [\Delta H_{(sítio\ ativo)} + \Delta H_{(ligante)}] \text{ (eq. 1)}$$

Para se tentar aproximar mais das condições experimentais, foi introduzido o efeito do solvente no cálculo definindo uma constante dielétrica  $\epsilon$  para o meio em que se encontra o sistema (aproximação do contínuo). Os valores utilizados foram 78,4, que é a constante dielétrica da água, e 4, que é a constante dielétrica para o interior das proteínas.

## Resultados e Discussão

A entalpia de interação ( $\Delta H_{int}$ ) representa a energia liberada ou absorvida sob a forma de calor devido à formação do complexo proteína/ligante. Quando  $\Delta H_{int}$  é negativo significa que o sistema libera energia, ou seja, um estado mais estável se formou. Porém, quando  $\Delta H_{int}$  é positivo, o sistema final é mais energético que o original.



Na tabela 1 estão os valores de  $\Delta H_{int}$ , em kJ/mol, calculados para os compostos estudados com o método PM6, de ambas as seleções, 10 Å e 15 Å, e com as diferentes constantes dielétricas:

**Tabela 1:** entalpias de interação (em kJ/mol) obtidas com o método PM6

Composto	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	10 Å em vácuo	10 Å em $\epsilon = 4$	10 Å em $\epsilon = 78,4$	15 Å em vácuo	15 Å em $\epsilon = 4$	15 Å em $\epsilon = 78,4$
4a	Bu	4-piridil	533,11	743,06	688,25	-164,37	-72,1	223,95
4b	<i>iso</i> -Pr	4-piridil	842,96	740,37	634,4	846,56	-459,7	136,88
4c	<i>iso</i> -Bu	4-piridil	735,22	739,19	584,61	295,05	-145,92	68,2
4d	Et	4-piridil	510,38	642,69	667,48	1254,58	-114,26	532,93
4e	Bu	3-piridil	980,69	662,9	635,18	513,67	-43,7	212,55
4f	<i>iso</i> -Pr	3-piridil	722,74	648,2	755,69	-15,37	-166,85	152,31
4g	<i>iso</i> -Bu	3-piridil	453,55	735,13	776,32	-513,22	-69,65	153,69
4h	Et	3-piridil	780,05	747,63	801,79	-763,37	-198,16	276,16
4i	Bu	2-piridil	794,24	740,28	762,37	435,15	-429,96	390,27
4j	<i>iso</i> -Pr	2-piridil	862,32	743,52	892,22	-758,57	31,56	371,26
4k	<i>iso</i> -Bu	2-piridil	628,38	739,33	739,44	-93,47	-56,25	230,25
4l	<i>sec</i> -Bu	2-piridil	528,3	756,08	790,93	-257,37	-17,92	373,88
4m	<i>sec</i> -Bu	5-Br-3-piridil	705,73	757,39	765,87	417,65	-360,29	171,86
4n	<i>sec</i> -Bu	2-Br-3-piridil	499,84	836,45	693,06	742,32	-264,11	248,19
4o	Et	3,5-Cl-4-piridil	692,16	842,31	872,8	-602,45	-411,91	910,79

## Conclusão

Os valores obtidos na seleção de 10 Å não foram favoráveis, levando a resultados de  $\Delta H_{int}$  positivos. Com a seleção de 15 Å obtivemos valores mais favoráveis, principalmente nos cálculos com constante dielétrica igual a 4. O motivo deve ser a inclusão de alguns aminoácidos, não selecionados anteriormente, que dão mais estabilidade ao complexo, e o uso de condições que mimetizam melhor o interior das proteínas. As estruturas finais estão em análise para se determinar as diferenças de interações estabelecidas nos complexos nas duas seleções.

## Referências Bibliográficas

- Barrett, M.P.; Gilbert, I.H.. Perspectives for new drugs against Trypanosomiasis and Leishmaniasis. *Curr. Top. Med. Chem.*, 2, 471-482, 2002.
- Gueux, N. and Peitsch, M.C. (1997), SWISS-MODEL and the Swiss-PdbViewer: An environment for comparative protein modeling.
- MATTA, C. B. B., QUEIROZ, A. C., GONÇALVES, V. T., CISTIA, C. N. D., ALEXANDRE-MOREIRA, M. S., SANT'ANNA, C. M. R., DACOSTA, J. B. N., Novel Dialkylphosphorylhydrazones: Synthesis, Leishmanicidal Evaluation and Theoretical Investigation of the Proposed Mechanism of Action. Artigo submetido, 2015.
- SANT'ANNA, C. M. R., Métodos de Modelagem Molecular para Estudo e Planejamento de Compostos Bioativos: Uma Introdução. *Revista Virtual de Química*, 1, 49 - 57, 2009.
- World Health Organization, WHO, <http://www.who.int/en/>, acessado em 26 de janeiro de 2015.

MOPAC2012, James J. P. Stewart, Stewart Computational Chemistry, Colorado Springs, CO, USA, [HTTP://OpenMOPAC.net](http://OpenMOPAC.net) (2012).  
STEWART, J. J. P., Optimization of parameters for semiempirical methods V: modification of NDDO approximations and application to 70 elements. *J. Mol. Mod.*, v. 13, p. 1173-1213, 2007.