

Estudo comparativo do modo de ligação no Sítio Aniônico Periférico de complexos da enzima Acetilcolinesterase

da Silva, J.A. (UFAL-UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS) ; Balliano, T.L. (UFAL-UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS)

RESUMO

A enzima Acetilcolinesterase (AChE) é uma enzima serina hidrolase muito eficiente, que é encontrada na junção sináptica dos neurônios no sistema nervoso central e periférico. Sua função é a hidrólise do neurotransmissor acetilcolina (ACh), gerando como produtos acetato e colina. Esta enzima está diretamente relacionada a o tratamento da doença de Alzheimer (AD), pois a queda da taxa do neurotransmissor ACh é uma das principais características nas pessoas afetadas pelo AD. Por isso, os fármacos existentes para o tratamento do AD baseiam-se no princípio de inibição da AChE, como uma forma de restaurar os níveis de ACh e deste modo tem-se verificado modestas melhoras nos pacientes da AD. Este trabalho estuda novos inibidores voltados para o sítio aniônico periférico (PAS).

PALAVRAS CHAVES

Acetilcolinesterase; Cristalografia; Sítio Aniônico Periférico

INTRODUÇÃO

A dinâmica da enzima AChE inclui uma rápida movimentação do substrato ACh em direção ao fundo do gorge de 20 Å, onde se encontra a tríade catalítica, e a catálise gera produtos que podem ser expelidas por aberturas chamadas back doors (Jacques-Philippe Colletier. et al). Enquanto o gorge possui uma apresentação predominante de resíduos aromáticos (Xu, Y. et al), que podem selecionar ou rejeitar muitas moléculas que poderiam ser usadas como inibidores competitivos junto a tríade catalítica; O PAS composto pelos resíduos Tyr70, Asp72, Tyr121, Trp279 e Tyr334 (G. Johnson e S.W. Moore), está ligado ao chamado Ω -loop Cys69- Cys96 (Jianxin Shi. et al), que com sua movimentação controla a abertura e fechamento dos back doors e da região dentro do gorge chamado bottle neck, e conseqüentemente afeta a atividade catalítica da enzima. Deste modo o desenvolvimento de moléculas que possam se ligar ao PAS pode ser uma importante estratégia de inibição da AChE. Sendo assim a análise das características estruturais de complexos de ligantes com o PAS pode ser uma importante fonte de informação para fazer a correlação entre o modo de ligação no PAS, relativo às próprias características das cadeias laterais presentes e os efeitos sobre a estrutura da enzima, onde se faz necessário um software de visualização como o Pymol e um programa de predição de ancoramento molecular como o AUTODOCK, para enfim obter valiosas informações estruturais para avaliar o potencial de moléculas com estrutura análoga ao neurotransmissor GABA direcionado a atuar especificamente no sítio do PAS.

MATERIAL E MÉTODOS

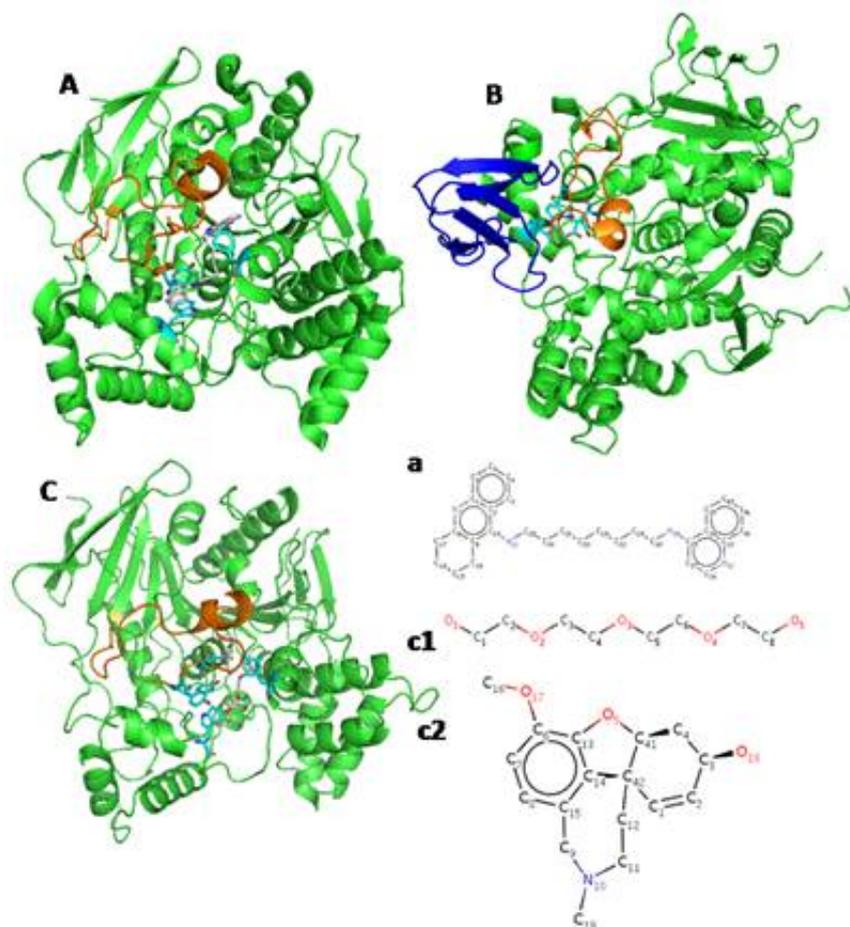
O programa AUTODOCK4.2 é uma ferramenta importante no campo na modelagem molecular (Morris, G. M., et al), que pode simular as interações de um ligante em uma proteína e deste modo prever conformações de menor energia e tem sido muito usado para se obter informações que possam orientar na sugestão de compostos que possam atuar como inibidores frente a uma enzima. Já o programa Pymol foi usado para a análise de dados de estruturas como ferramenta para visualização do ancoramento relativo de um ligante na enzima AChE na região do PAS, para estruturas obtidas no PDB. As estruturas usadas foram: 1ODC (Edwin H. Rydberg et al), AChE torpedo californica em complexo com n-quinolina-4-il-n'-(1,2,3,4-tetrahydroacridina-9-il)octano-1,8diamina. 1UT6 (Rydberg, E.H. et al), AChE em complexo com N-9-(1',2',3',4'-tetrahydroacridinil)-1,8- diaminoctano. 1F8U, AChE em complexo com Fasciculin-II. 1DX6 (Greenblatt, H.M. et al), AChE complexado com (-)-galantamina e tetraetileno glicol. 1EVE (Kryger, G. et al), AChE complexada com Aricept: 1-benzil-4-[(5,6-dimetoxi-1-indanon-2-

il)metil]piperidina.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

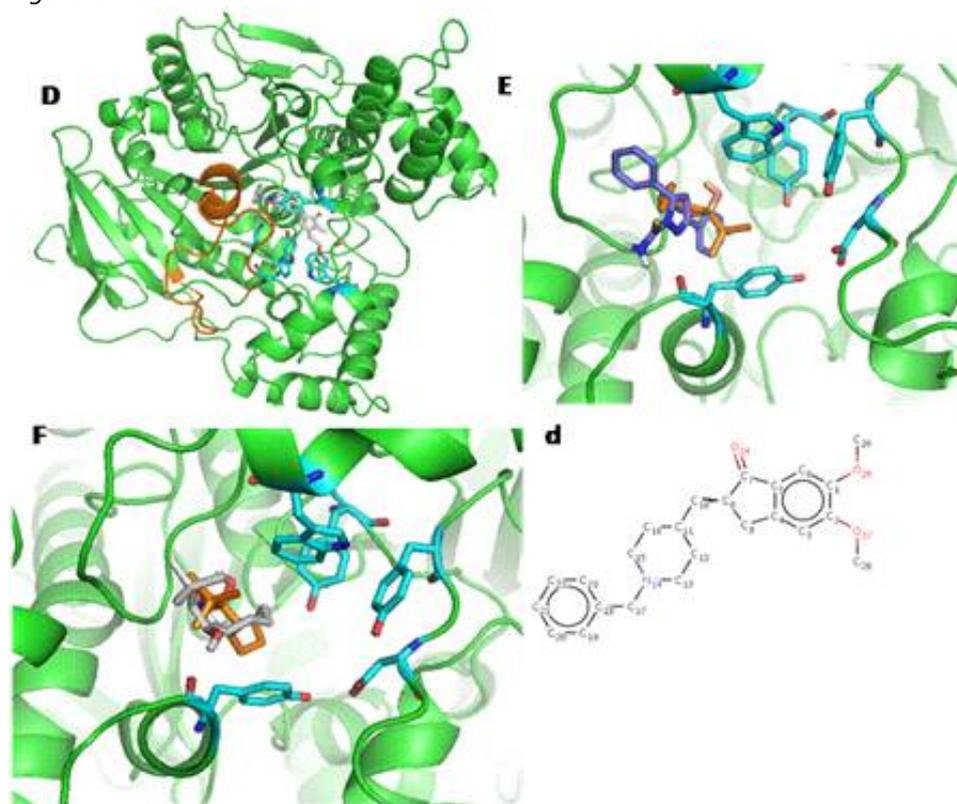
As estruturas analisadas [1ODC (A, fig 1), ligante (a, fig 1);1F8U (B, fig 1);1DX6 (C, fig 1), ligantes (c2, fig 1) e (c1, fig 1); 1EVE (D, fig 2), ligante (d, fig 2)], vemos que algumas interagem no PAS e no CAS; no caso do peptídeo a inibição se dar por bloqueio estrutural da gorge e outras vezes a inibição se ocorre por certas características estruturais do ligante, como a presença de resíduos aromáticos para estabilizar sua entrada pelo canal do gorge onde pode permanecer ligados ao manter diversas interações com as cadeias laterais próximas. O 3-propil-5-triclorometil-4,5-dihidro-isaxol-5-ol, (fig 2, F), $E = -6.89$ kcal/mol. A porção hidrofóbica está voltada para um resíduo aromático, Phe338. O oxigênio no anel central faz uma ligação de hidrogênio com o Arg296 (2,1 Å); a região com átomos de cloro não está sendo aproveitada para ligações favoráveis, mas está em contato com o resíduo hidrofóbico Trp286. O 3-cilcopropil-5- triclorometil-4,5-dihidro-isaxol-5-ol, (F, fig 2), $E = -6.81$ kcal/mol está posicionado na região do PAS, sua porção mais hidrofóbica voltada para o Trp286, enquanto que a hidroxila do anel esta em ligação de hidrogênio com o Arg296 (2,2 Å). A porção da molécula com átomos de cloro está em contato com um resíduo apolar, Phe338. No geral o ancoramento desta molécula é bastante desfavorável. O 5-alail-3-penil-4,5-dihidro-pirazol-1-ácido amido carboxílico; composto com metano $E = -7.49$ kcal/mol, fazendo duas ligações de hidrogênio entre os hidrogênios ligados ao hidrogênio do átomo de nitrogênio do composto, e átomos de oxigênio para com Ser293 (2,1 Å) e Gly342 (2,1 Å), tendo sua porção de anel aromático estabilizado em uma região hidrofóbica com os Phe338 e Phe297, a outra extremidade tem pouco proveito com os resíduos adjacentes.

Figura 1:



Complexos das estruturas e respectivos ligantes na região do PAS.

Figura 2



Complexos das estruturas e respectivos ligantes na região do PAS.

CONCLUSÕES

Ao comparar ligantes de estrutura análoga ao GABA, vemos que a extensão da molécula é um fator importante para que possa ser estabilizada por interações hidrofóbica, e ligações de hidrogênio; Já as estruturas com 3 átomos de cloro na extremidade não encontra condições favoráveis de estabilização nos resíduos adjacentes estando em proximidade de resíduos aromáticos; e uma vez que o núcleo cíclico tendem a estar em sobreposição em função da existência de ligação de hidrogênio de átomos da parte cíclica da molécula; estas informações são valiosas para propor modificações das mesmas.

AGRADECIMENTOS

UFAL PIBIC FAPEAL CNPq

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA

G. Johnson e S.W. Moore. The Peripheral Anionic Site of Acetylcholinesterase: Structure, Functions and Potential Role in Rational Drug Design. *Current Pharmaceutical Design*, 2006, 12, 217-225

Complexes of Alkylene-Linked Tacrine Dimers with *Torpedo californica* Acetylcholinesterase. Binding of Bis(5)-tacrine Produces a Dramatic Rearrangement in the Active-Site Gorge. Edwin H. Rydberg, Boris Brumshtein, Harry M. Greenblatt, Dawn M. Wong, David Shaya, Larry D. Williams, Paul R. Carlier, Yuan-Ping Pang, Israel Silman, e Joel L. Sussman,. *J. Med. Chem.* 2006, 49, 5491-5500

Greenblatt, H.M.,Kryger, G.,Lewis, T.T., Silman, I., Sussman, J.L.. STRUCTURE OF ACETYLCHOLINESTERASE COMPLEXED WITH (-)-GALANTHAMINE AT 2.3Å RESOLUTION. (1999) *FEBS Lett.* 463:321

Rydberg, E.H., Brumshtein, B., Greenblatt, H.M., Wong, D.M., Shaya, D., Williams, L.D., Carlier, P.R., Pang, Y.-P., Silman, I., Sussman, J.L.. STRUCTURE OF ACETYLCHOLINESTERASE (E.C. 3.1.1.7) COMPLEXED WITH N-9-(1',2',3',4'-TETRAHYDROACRIDINYL)-1,8-DIAMINOCTANE AT 2.4 ANGSTROMS RESOLUTION. (2006) J.Med.Chem. 49: 5491

Kryger, G., Silman, I., Sussman, J.L.. THREE DIMENSIONAL STRUCTURE OF THE ANTI-ALZHEIMER DRUG, E2020 (ARICEPT), COMPLEXED WITH ITS TARGET ACETYLCHOLINESTERASE. (1999) Structure Fold.Des. 7: 297-307

Morris, G. M., Huey, R., Lindstrom, W., Sanner, M. F., Belew, R. K., Goodsell, D. S. and Olson, A. J. (2009) Autodock4 and AutoDockTools4: automated docking with selective receptor flexibility. J. Computational Chemistry 2009, 16: 2785-91.

Xu, Y.; Colletier, J.; Weik, M.; Jiang, H.; Moulton, J.; Silman, I.; Sussman, J. Biophysical Journal, vol. 95, issue 5, pp. 2500-2511. Flexibility of Aromatic Residues in the Active-Site Gorge of Acetylcholinesterase: X-ray versus Molecular Dynamics

Jianxin Shi., Kaihsu Tai, J. Andrew McCammon, Palmer Taylor, and David A. Johnson, Nanosecond Dynamics of the Mouse Acetylcholinesterase Cys69–Cys96 Omega Loop

Backdoor opening mechanism in acetylcholinesterase based on X-ray crystallography and molecular dynamics simulations Jacques-Philippe Colletier, Yechun Xu, P. Therese Lang, Hualiang Jiang, Israel Silman, Joel L. Sussman, and Martin Weik, PROTEIN SCIENCE 2011 VOL 20:1114—1118