

Uso de abordagens *in silico* para identificação de inibidores da enzima acetilcolina esterase (EC 3.1.1.7)

Eduarda Ozorio Pantoja¹, Walter Filgueira de Azevedo Junior¹ (orientador)

¹*Faculdade de Biociências, Laboratório de Bioquímica Estrutural, PUCRS.*

Resumo

O presente estudo tem como objetivo identificar novos inibidores em potencial da enzima acetilcolina esterase, usando abordagens *in silico*. Estão sendo realizadas avaliações de vários protocolos de simulação computacional de *docking* com o objetivo de encontrar os melhores protocolos de interação de proteína-ligante. A acetilcolina esterase é um importante alvo de drogas, pois sua inibição parcial resulta num acréscimo de acetilcolina que pode ter benefícios terapêuticos para portadores da doença de Alzheimer.

Introdução

Durante a transmissão do impulso nervoso, as células comunicam-se através de neurotransmissores. Em junções neuromusculares e em diversas sinapses envolvidas no raciocínio e na memória, o neurotransmissor é a acetilcolina (ACh).

A acetilcolina fica armazenada em vesículas na célula pré-sináptica, até que haja um estímulo para que esse neurotransmissor seja liberado. Esse estímulo é o impulso nervoso, ou potencial de ação. Ocorre assim a despolarização da membrana dessa célula, o que leva a abertura dos canais de Cálcio dependentes de voltagem, culminando na entrada de íons de Cálcio. A liberação da acetilcolina está ligada diretamente à concentração de Cálcio na célula. A acetilcolina então é liberada das vesículas da célula pré-sináptica para a fenda sináptica, onde se liga aos receptores colinérgicos da célula pós-sináptica, ocasionando a abertura dos canais de sódio dessa célula. O Sódio promove a despolarização da célula pós-sináptica, permitindo a ocorrência do impulso nervoso.

Para que ocorra o término da transmissão do impulso nervoso é necessário que ocorra a degradação da acetilcolina na fenda, que é realizada pela enzima Acetilcolina esterase

(AChE). A reação da ACh pela AChE resulta em colina e acetato (caso não ocorresse a hidrólise da ACh, os receptores colinérgicos ficariam abertos por um tempo maior que o necessário para a repolarização da célula pré-sináptica).

A acetilcolina esterase é alvo de estudos para desenhos de drogas contra o mal de Alzheimer, uma desordem neurodegenerativa descoberta por Alois Alzheimer em 1907, caracterizada por uma progressiva deterioração da memória e da cognição (Toda, 2009) devido à perda de neurônios. Drogas inibidoras dessa enzima permitem um aumento nos níveis de acetilcolina na fenda sináptica, aumentando assim o impulso nervoso.

Metodologia

Docking Molecular é um processo que prediz a conformação de um complexo proteína-ligante (de Azevedo, 2010). Toda a simulação de *docking* necessita de um estágio preliminar onde vários protocolos são testados a fim de verificar se a simulação de *docking* é capaz de recuperar a estrutura cristalográfica. Esse processo chama-se *redocking*, onde as coordenadas da estrutura cristalográfica são comparadas com as coordenadas da estrutura obtida através da simulação, gerando o valor de RMSD (*Root-mean-square deviation*). Em simulações de *docking*, os melhores resultados geram valores de RMSD abaixo de 1,5 Å. Foram utilizados o programa Moldock Virtual Docker (Thomsen, Christensen, 2006) e diferentes estruturas cristalográficas de acetilcolina esterase obtidas através do RCSB *Protein Data Bank* (www.rcsb.org/pdb).

Resultados e Discussão

Até a presente data foram realizadas diversas simulações de *redocking* com estruturas de AChE com diversos ligantes, onde foram obtidos valores menores que 1,5 Å, validando os protocolos escolhidos e provando que são capazes de recuperar a posição do ligante na estrutura cristalográfica e que podem ser utilizados para a busca de novos inibidores.

Conclusão

As simulações ainda estão em andamento e os dados já obtidos serão submetidos a uma simulação denominada *Virtual Screening*, onde utilizaremos os protocolos validados através do *redocking*, as coordenadas do sítio ativo da proteína (acetilcolina esterase) e uma biblioteca de produtos naturais, buscando possíveis inibidores de AChE.

Referências

HEBERLÉ, G.; DE AZEVEDO, W. F., Bio-Inspired Algorithms Applied to Molecular Docking Simulations. **Current Medicinal Chemistry**. Vol. 18, N° 9 (2011), pp. 1339 –1352.

DE AZEVEDO, W.F Jr., MolDock Applied to Structure-Based Virtual Screening. **Current Drug Targets**. Vol. 11, N° 3 (2010), pp. 327 – 334.

TODA N, KANEKO T, KOGEN H. Development of an Efficient Therapeutic Agent for Alzheimer's Disease: Design and Synthesis of Dual Inhibitors of Acetylcholinesterase and Serotonin Transporter. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin (Tokyo)** Vol. 58, N° 3 (2010), pp. 273 – 87.