

Antichagásicos potenciais: estudo de *docking* e atividade inibitória de compostos na cruzaina (cruzipaína)

Gustavo H. G. Trossini (PG)^{1*}(trossini@usp.br), Nelilma C. Romeiro (PQ)², Alberto Malvezzi³ (PG) Charles L. Brito (TC)¹, Antonia T. do Amaral³, Carlos A. M. Fraga (PQ)², Eliezer J. Barreiro (PQ)², Elizabeth Igne Ferreira (PQ)¹, ¹LAPEN, Depto. Farmácia, F-C-F, USP, São Paulo-SP, Brasil; ²LASSBio, Faculdade de Farmácia, UFRJ, Rio de Janeiro-RJ, Brasil; ²Depto de Química Fundamental, IQ, USP, São Paulo-SP, São Paulo-SP, Brasil.

Palavras Chave: Análogos do nitrofural, *docking*, cruzaina.

Introdução

A doença de Chagas se apresenta como grande causa de morbi-mortalidade, afetando cerca de 18 milhões de pessoas no continente americano. Face à carência de antichagásicos, é premente a necessidade de novas alternativas terapêuticas¹. O nitrofural (NF) é ativo contra o *T. cruzi*, parasita responsável pela doença de Chagas por ação na tripanotona redutase². Seu derivado hidroximetilado (NFOH) mostrou-se mais ativo e menos tóxico que seu precursor, despertando grande interesse na continuidade dos estudos³. A pesquisa de análogos do NF como antichagásicos potenciais vem sendo explorada nos últimos anos, sendo proposto mecanismo de ação envolvendo os grupos semicarbazona e tiosemicarbazona presentes nestes compostos⁴. Análogos do NF, estudados previamente por modelagem molecular (método AM1), mostraram condições estereoelêtrônicas para o ataque nucleofílico pelo resíduo Cys25 da cruzipaína⁵. No presente trabalho, realizou-se estudo de *docking* de oito análogos (fig.1) do NF obtidos, utilizando-se o programa FlexE⁶ do módulo de *docking* do programa Sybyl (Tripos hc.)⁷, de modo a verificar a interação com a cruzaina.

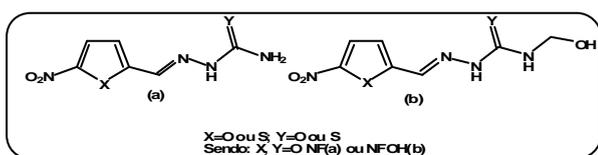


Figura 1- Análogos do NF.

NF e NFOH foram avaliados quanto à possível inibição da cruzaina. Realizou-se a incubação dos compostos e cruzaina recombinante por 1 hora a 37 °C, pH 6,5 (tampão fosfato, EDTA 0,2 M), procedendo-se a leitura por fluorimetria após adição do substrato Bz-Phe-Arg-MCA, medindo-se a porcentagem de inibição⁸.

Resultados e Discussão

Empregou-se o módulo de *docking* FlexE do programa Sybyl7.2 utilizando estruturas cristalográficas da cruzaina (códigos no PDB: 1ME4, 1ME3, 1AIM, 2AIM e 1F2B). Um banco de dados foi criado para a série de moléculas com cargas AM1, PM3, MMFF e GH, visando determinar qual delas

geraria valores de ΔG teórico mais favoráveis. Os quatro métodos colocaram o grupo (tio)semicarbazona próximo à Cys25 e à His159 em posição favorável a receber o próton para a estabilização da ligação com a cruzipaína. O método AM1 possibilitou, predominantemente, a obtenção dos melhores resultados de *docking*, tendo o NFOH apresentado o melhor *score* (fig.2).

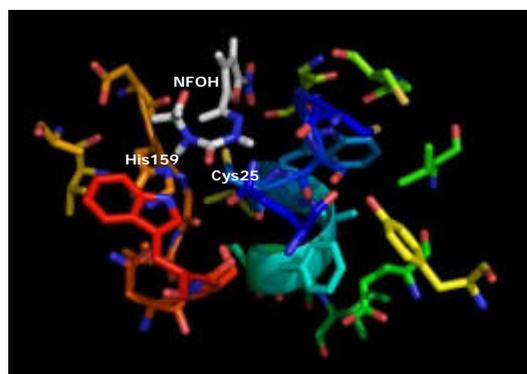


Figura 2 –*Docking* do NFOH na cruzaina.

Os compostos avaliados quanto à capacidade inibitória da cruzaina mostraram-se ativos: o NFOH, com 60% e o NF, com 40% de capacidade de inibição na concentração de 10 μ M.

Conclusões

A metodologia de *docking* empregada sugere a interação do grupo (tio)semicarbazona dos análogos com a Cys25, sendo o método AM1 o mais adequado. O derivado NFOH apresentou o melhor *score* de energia. Os resultados obtidos demonstraram que o grupo estudado é inibidor da cruzaina, sendo o NFOH mais ativo que seu precursor NF.

Agradecimentos

À FAPESP (proj. temático 01/01192-3 e bolsa de doutorado 06097-7), ao CNPq (Bolsa de Produtividade) e ao Prof. Dr. L. Juliano, pela doação da cruzaina.

¹WHO, <http://www.who.int/ctd/html/chagadts/html>, 2004.

²Henderson, G.B. et al. Proc. Natl. Acad. Sci., 1988, 85, 5374

³Chung, M. C. et al. Bioorg. Med. Chem., 2003, 11, 4779.

⁴Aguirre, G. et al., Bioorg. Med. Chem, 12, 2004, 4885.

⁵Trossini, G. H. G., et. al., 29^a R A SBQ, <https://sec.s bq.org.br/resumos/29RA/T1467-1.pdf>

⁶Claussen, H. et al. J. Mol. Biol. 2001, 308, 377.

⁷Polgar, T., Keseru, G. M., *J. Chem. Inf. Model.* **2006**, 46, 1795-805.

⁸Judice, W.A. *et al. Eur J Biochem.* **2001**, 268, 6578.