

# Planejamento de Inibidores da Purina Nucleosídeo Fosforilase de *Schistosoma mansoni*: Triagem Virtual, Avaliação Bioquímica e Mecanismo de Ação

Rafael V. C. Guido (PQ)<sup>\*a</sup>, Matheus P. Postigo (PG)<sup>a</sup>, Marcelo S. Castilho (PQ)<sup>b</sup>,  
Julianna F. C. Albuquerque (PQ)<sup>c</sup>, Glaucius Oliva (PQ)<sup>a</sup>, Adriano D. Andricopulo (PQ)<sup>a</sup>  
<sup>\*rvguido@ifsc.usp.br</sup>

<sup>a</sup>Laboratório de Química Medicinal e Computacional, Instituto de Física de São Carlos; <sup>b</sup>Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia; <sup>c</sup>Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco

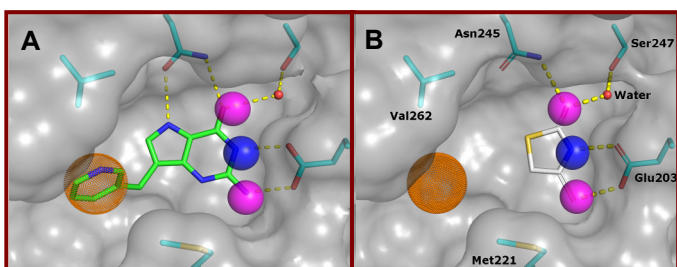
Palavras Chave: esquistossomose, modelo farmacofórico, triagem virtual, inibidores enzimáticos,

## Introdução

A esquistossomose é uma doença endêmica tropical que afeta 74 países ao redor do mundo.<sup>1</sup> O repertório de fármacos disponível é limitado e/ou inadequado, sendo agravado pela emergência de cepas de parasitas resistentes. A enzima purina nucleosídeo fosforilase de *Schistosoma mansoni* (SmPNP, EC 2.4.2.1) foi selecionada como alvo para a identificação de novos inibidores candidatos a agentes quimioterápicos contra a esquistossomose.<sup>2</sup> A estratégia utilizada, que incluiu a criação de um modelo farmacofórico baseado na estrutura do alvo molecular e a triagem virtual de base de dados de compostos, levou a identificação de tioxotiazolidinonas com promissora atividade *in vitro* contra a enzima alvo, representando uma classe inédita de inibidores da SmPNP. Nossos estudos incluíram também a expansão da série de inibidores, através da síntese de novas moléculas, estudos de cinética enzimática, mecanismo de inibição e modelagem molecular. As estratégias integradas de química medicinal possibilitaram a obtenção de novos inibidores competitivos da enzima na faixa do baixo micromolar.

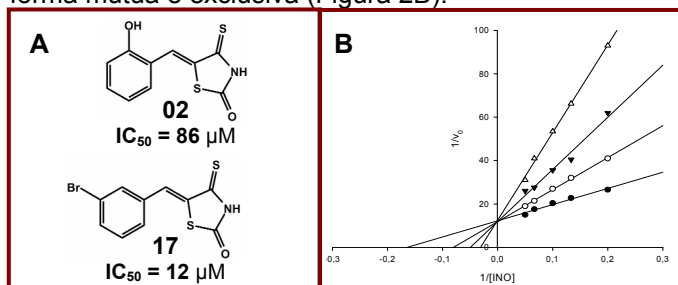
## Resultados e Discussão

A análise estrutural da estrutura da SmPNP em complexo com diversos ligantes no sítio ativo do substrato natural inosina permitiu a identificação de propriedades estruturais e físico-químicas importantes para o processo de reconhecimento molecular. Estas informações foram reunidas em um modelo farmacofórico 3D de 4 pontos (Figura 1A), o qual foi incorporado no programa UNITY (SYBYL 8.0) para triagem de moléculas. A base de dados utilizada foi um subconjunto da "ZINC database" com 300.563 compostos. A busca 3D com o UNITY identificou 17.028 moléculas que apresentavam pelo menos 3 das 4 características farmacofóricas. Em seguida, utilizou-se o programa FlexX para realizar a triagem virtual e gerar o modo de ligação das moléculas selecionadas. Os 500 compostos melhores pontuados pelo FlexX foram inspecionados visualmente para a seleção final de novos candidatos a inibidores.



**Figura 1.** (A) Modelo farmacofórico baseado no receptor (magenta: grupos doadores/aceptores de H; azul: grupos doadores de H; laranja: grupos hidrofóbicos). (B) Modo de ligação da tioxotiazolidinona no sítio de ligação da SmPNP.

Dentre as centenas de compostos inspecionados, os derivados tioxotiazolidinonas apresentaram atrativas características moleculares: (i) satisfaziam três das quatro restrições farmacofóricas; (ii) apresentavam um novo arcabouço molecular; e (iii) possuíam excelente complementaridade com o sítio ativo da SmPNP (Figura 1B). Um subconjunto de 4 derivados tioxotiazolidinonas foi selecionado para síntese e avaliação da capacidade inibitória. Os compostos apresentaram 60-90% de inibição da SmPNP na concentração de 200  $\mu$ M, sendo o composto **2** o mais potente identificado ( $IC_{50}$  = 86  $\mu$ M, Figura 2A). Visando-se a otimização da propriedade biológica foram conduzidos estudos de relação estrutura-atividade, guiados pelos dados de modelagem molecular, que levaram a obtenção de um conjunto de 20 derivados tioxotiazolidinonas como novos inibidores da SmPNP, entre eles, o composto mais potente foi o **17** (Figura 2A), que apresentou valor de  $IC_{50}$  de 12  $\mu$ M, ou seja, 7 vezes mais potente que o precursor **2**. Em seguida, compostos representativos desta classe foram selecionados para estudos do mecanismo de inibição enzimática. Os dados cinéticos revelaram inibição reversível do tipo competitiva frente à SmPNP, ou seja, substrato e inibidor competem pela ligação ao mesmo sítio da enzima, de forma mútua e exclusiva (Figura 2B).



**Figura 2.** (A) Derivados tioxotiazolidinona caracterizados como inibidores da SmPNP. (B) Gráfico de Lineweaver-Burk do inibidor **17**.

## Conclusões

A integração de estratégias modernas de planejamento de química medicinal foi extremamente útil para a descoberta e desenvolvimento de uma série de inibidores da enzima alvo que apresentam grande inovação representada por sua estrutura molecular e mecanismo de inibição definido. A esquistossomose é considerada pela Organização Mundial de Saúde uma das doenças tropicais negligenciadas mais importantes em termos socioeconômicos. Portanto, todos os esforços possíveis são importantes na tentativa de gerar candidatos a novos agentes quimioterápicos.

## Agradecimentos

CNPq, FAPESP

<sup>1</sup> Steinmann, P.; Keiser, J.; Bos, R.; Tanner, M.; Utzinger, J. *Lancet. Infect. Dis.* **2006**, *6*, 411-425.

<sup>2</sup> Castilho, M.S.; Postigo, M.; Pereira, H. M.; Oliva, G.; Andricopulo, A.D. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 10.1016/j.bmc.2010.01.022.