

Triagem virtual de inibidores da enzima cruzaina de *Trypanosoma cruzi*

Mariana L. Souza(PG)^{1*}, Rafaela S. Ferreira(PG)^{1,2}, Gustavo H.G. Trossini(PG)^{1,3}, Adriano D. Andricopulo(PQ)¹
*mlaureano@ursa.ifsc.usp.br

¹Laboratório de Química Medicinal e Computacional, Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo; ²Departamento de Química Farmacêutica, University of California San Francisco, USA; ³Laboratório de Planejamento de Quimioterápicos Contra Endemias Negligenciadas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo.

Palavras Chave: *Trypanosoma cruzi*, cruzaina, triagem virtual

Introdução

A doença de chagas é um problema de saúde que atinge cerca de 15 milhões de pessoas na América Latina.¹ O arsenal terapêutico contra a doença é bastante limitado e insuficiente em todos os aspectos clínicos, tornando-se urgente o desenvolvimento de novos agentes antichagásicos. A pesquisa em química medicinal por novas alternativas quimioterápicas envolve a identificação de um alvo biológico, sendo que a enzima cruzaina, uma cisteíno-protease envolvida em todos os estágios de desenvolvimento e diferenciação do *Trypanosoma cruzi*, foi selecionada para os nossos estudos.²

O planejamento de fármacos baseado na estrutura (*Structure Based Drug Design* - SBDD) é um método bastante utilizado na identificação e otimização de inibidores enzimáticos³. Esta metodologia consiste de diversas técnicas computacionais que utilizam estruturas cristalográficas de proteínas alvo para o planejamento racional de ligantes. Entre as técnicas modernas utilizadas, destacamos a triagem virtual, que possibilita identificar e selecionar novas moléculas candidatas a inibidores a partir de bases de dados de compostos comercialmente disponíveis. As 17 estruturas da cruzaina em complexo com ligantes que são disponíveis no *Protein Data Bank* (PDB) permitiram a aplicação de métodos de SBDD na seleção de uma nova série de candidatos a inibidores da enzima alvo.

Resultados e Discussão

Após uma análise criteriosa das estruturas de cruzaina depositadas no PDB, para reconhecimento do sítio ativo e estabelecimento das interações intermoleculares essenciais no processo de ligação entre ligantes e proteína, foi selecionada e preparada uma estrutura para o processo de triagem virtual utilizando o programa Dock 3.5 (Figura 1). Foi utilizada a base de dados *lead-like* do ZINC,⁴ que consistia de 3.409.091 moléculas com características moleculares apropriadas para a descoberta de candidatos a compostos líderes. Foram analisadas visualmente as 500 melhores poses pontuadas pelo Dock, observando-se também a complementaridade multifuncional em relação ao sítio, as possíveis ligações de hidrogênio e a

flexibilidade da molécula. A partir destes critérios, foram selecionadas 32 moléculas para posterior estudos das interações intermoleculares e avaliação biológica. A Figura 2 apresenta a estrutura química de duas moléculas selecionadas.

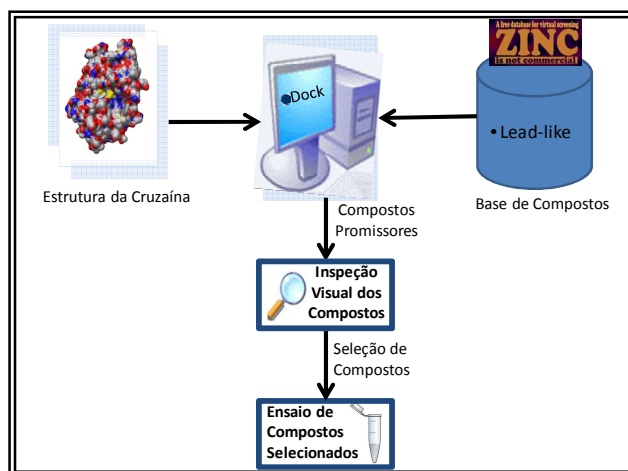


Figura 1. Esquema da triagem virtual de inibidores.

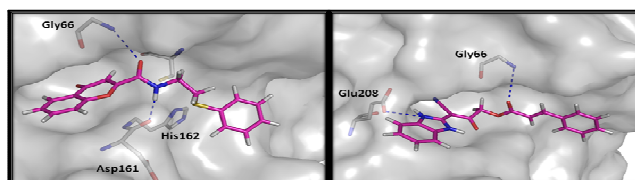


Figura 2. Interações intermoleculares de dois ligantes selecionados.

Conclusões

O estudo de SBDD – triagem virtual - realizado permitiu a seleção de 32 ligantes que apresentam boa complementaridade estrutural em relação ao sítio de ligação da cruzaina de *T. cruzi*, e se caracterizam como potenciais candidatos a inibidores enzimáticos. Os compostos selecionados estão sendo avaliados em ensaios bioquímicos padrões para a determinação de potência, afinidade e do mecanismo de ação enzimático.

Agradecimentos

FAPESP, CNPq e CAPES

¹ WHO: <http://www.who.int/tdr/diseases>, acessada em Setembro 2009

² Sajid, M.; McKerrow, J.H., *Mol Biochem Parasitol.* 120, 1-21, 2002.

³ Kolb, P. et al, *PNAS*, 106, 6843-6848, 2009.

⁴ ZINC: <http://zinc.docking.org>, acessada em Setembro 2009.