

Avaliação teórica de inibição da cruzaina de *T. cruzi* por pró-fármacos do NFOH e seus bioisósteros contendo liberadores de óxido nítrico

Ricardo A. M. Serafim (PG)^{1*}(ricardoserafim@usp.br), Gustavo H. G. Trossini (PQ)¹, Elizabeth I. Ferreira (PQ)¹.

¹LAPEN – Laboratório de planejamento e síntese de quimioterápicos potencialmente ativos contra endemias tropicais, Departamento de Farmácia, FCF-USP, São Paulo-SP, Brasil.

Palavras Chave: Docking, óxido nítrico, cruzaina, hidroximetilnitrofurural (NFOH), bioisósteros.

Introdução

A doença de Chagas é parasitose endêmica em 21 países do cone sulamericano, acometendo 15 milhões de pessoas. Atualmente, 28 milhões estão sob o risco de contaminação e mais de 41 mil novos casos surgem por ano¹. O arsenal terapêutico disponível é composto por apenas dois fármacos, benznidazol e nifurtimox, ambos com graves efeitos colaterais e pouco ativos na fase crônica da doença. Considerando-se a carência do arsenal terapêutico, é de grande valia a busca de quimioterápicos eficazes para seu tratamento². O hidroximetilnitrofurural (NFOH) e seus bioisósteros mostraram-se ativos frente à cruzaina. Essa enzima é a principal cisteína-protease do *T. cruzi*, tendo papel central em diversos processos bioquímicos, e considerada um alvo molecular atrativo para o desenvolvimento de novos fármacos. O mecanismo de ação desses compostos é sugerido pela interação entre a (tio)carbonila presente na estrutura molecular dessa classe de compostos e o resíduo Cys25 da cruzaina³. Uma via de inativação alternativa desta cisteína-protease pode se realizar através da formação de S-nitrosotiol, por meio de doadores de óxido nítrico (NO)⁴. No presente trabalho, utilizou-se a metodologia de *docking* com o objetivo de avaliar o sítio preferencial para o ataque nucleofílico pela Cys25 da cruzaina em pró-fármacos do NFOH e seus bioisósteros contendo o grupo éster nitrato como liberador de NO (Figura1). Os *dockings* foram efetuados no programa GOLD 3.1, utilizando a estrutura cristalográfica da cruzaina (cod. PDB 1ME4) e as estruturas dos pró-fármacos previamente otimizadas⁵. O programa PyMOL foi utilizado para visualização e interpretação dos resultados.

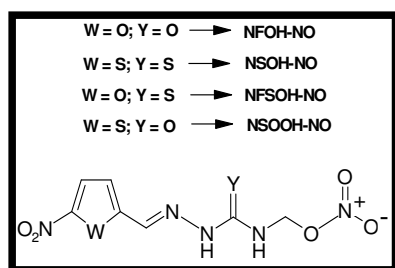


Figura 1: NFOH-NO e seus bioisósteros.

Resultados e Discussão

A análise dos resultados foi feita pela inspeção visual das poses de melhor *score* obtidas nos cálculos de *docking*. Para melhor interpretação dos resultados, levaram-se em consideração as características químicas do sítio ativo da cruzaina, tais como lipofilicidade do bolso S2 e pontos favoráveis para ligação de hidrogênio⁶. A avaliação do sítio mais favorável ao ataque nucleofílico foi feita pela observação da distância e posicionamento dos grupos passíveis de ataque nucleofílico das moléculas e o átomo de enxofre da Cys25 da cruzaina. Para as poses de melhor *score* para cada composto, o grupo éster nitrato e os grupos carbonila/tiocarbonila apresentaram distância que variou entre 2,8–2,9 Å e 3,0–3,7 Å, respectivamente, em relação a Cys25, com a molécula do NFSOH-NO obtendo a diferença mais significativa (2,8 e 3,7 Å).

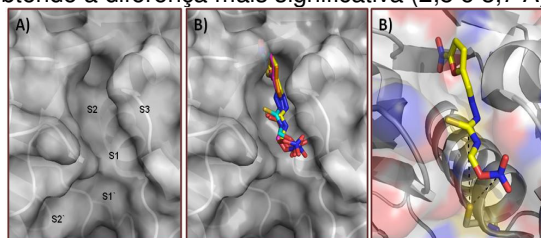


Figura 2: Docking dos pró-fármacos na cruzaina. A) Sítio ativo da cruzaina e os subsítios; B) *docking* dos pró-fármacos indicando a interação com os subsítios S2 e S1; C) *docking* do NFSOH-NO, apresentando as distâncias entre a Cys25.

Conclusões

A análise de *docking* mostra possível preferência de ataque nucleofílico da Cys25 no grupo éster nitrato em relação à carbonila/tiocarbonila, sugerindo assim, preferencial inativação da cruzaina pela formação de S-nitrosotiol.

Agradecimentos

À FAPESP (proj. temático 01/01192-3, bolsa de mestrado 09/06489-6 R.A.M.S. e bolsa de pós-doutorado 08/58723-0) e ao CNPq.

¹WHO, www.who.int, 2007.

²Urbina, J. A.; Docampo, R. *Trends Parasitol.* **2003**, 19, 495.

³Trossini, G. H. G. *Tese de Doutorado*. **2008**, 350p; ⁴ Colasanti, M.; Salvati, L.; Venturini, G.; Ascenzi, P.; Gradoni, L. *Trends Parasitol.* **2001**, 17, 575.

⁵Serafim, R. A. M. *et al.*, *Braz.J.Pharm.Sci.* **2009**, supl. 1, 45, 6. ⁶ Du, X. *et al. J. Med Chem.* **2002**, 45, 2695.