

Planejamento baseado na estrutura do receptor de inibidores da cruzaina de *Trypanosoma cruzi*: triagem virtual, avaliação bioquímica e biológica

Gustavo H. G. Trossini (PQ)^{*1,3}, Renata Krogh (PQ)², Tudor I. Oprea (PQ)³,
Adriano D. Andricopulo (PQ)², Elizabeth I. Ferreira (PQ)¹

*trossini@usp.br

¹LAPEN, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, ²LQMC, Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, ³Department of Biocomputing, University of New Mexico (USA)

Palavras Chave: *T. cruzi*, cruzaina, SBDD, busca virtual, ensaio de inibição enzimática, avaliação biológica.

Introdução

A doença de Chagas, ou tripanossomíase americana, causada pelo *Trypanosoma cruzi*, apresenta-se como grave problema de saúde pública para a América Latina. O arsenal terapêutico disponível contra a parasitose é composto por apenas dois fármacos, nifurtimox e benznidazol, ambos com baixa eficácia e graves efeitos adversos, sendo, portanto, urgente a busca de novas alternativas quimioterápicas¹. Estas envolvem, entre outras medidas, a escolha de um alvo bioquímico exclusivo do parasita, e compostos que atuem de forma potente e seletiva nesse alvo. Nesse contexto, a cisteíno-protease cruzaina se apresenta como alvo promissor na busca de inibidores candidatos a antichagásicos². Estratégias modernas de descoberta de novas moléculas bioativas integram métodos de quimio- e bioinformática integrados a estratégias experimentais, no chamado planejamento de fármacos com base na estrutura do receptor (*Structure Based Drug Design - SBDD*)³. Nesse trabalho aplicou-se esta estratégia na identificação de inibidores da enzima cruzaina de *T. cruzi*, em três etapas: construção do farmacofórico; triagem virtual e avaliação bioquímica e biológica dos compostos selecionados.

Resultados e Discussão

A análise comparativa dos campos moleculares e PCA/PCPA (GRID/GOLPE)⁴ de quatro cisteíno-proteases (cruzaina, falcipaina e catepsinas K e L) permitiu a elucidação de propriedades moleculares e físico-químicas favoráveis à cruzaina. Estas foram utilizadas na construção do farmacofórico.

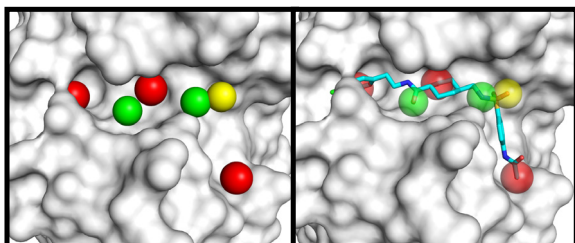


Figura 1. A) Farmacofórico baseado no receptor (vermelho: interações hidrofóbicas; verde: doador de ligação de H; amarelo: aceitor de ligação de H). B) composto selecionado na busca virtual com complementariedade ao receptor e obedecendo às restrições farmacofóricas.

A triagem virtual foi realizada a partir do banco de dados ChEMDIV (700.000 moléculas), utilizando o farmacoforo e filtros moleculares (MM entre 300 e 700; cLogP entre -2 e 5; átomos: H, C, N, O, F, Cl, Br, I, P e S; doadores e aceptores de ligação de hidrogênio de 2 a 10; grupos aromáticos de 0 e 6) no programa UNITY/SYBYL 8.0. Realizou-se a docagem molecular, no programa GOLD 4.0 utilizando as moléculas filtradas (3105) e a estrutura cristalográfica da cruzaina (1ME4). As 100 moléculas melhor classificadas foram analisadas. Destas, 11 foram selecionadas e adquiridas, as quais satisfizeram os critérios do farmacoforo. A terceira e última etapa foi a avaliação bioquímica e biológica (Figura 2).

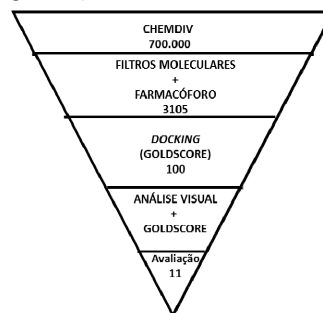


Figura 2. Esquema metodológico utilizado na busca virtual de inibidores da cruzaina.

Os 11 compostos testados inibiram a cruzaina, sendo que 7 destes na faixa submicromolar de IC₅₀. Nos ensaios *in vitro* de inibição do crescimento da forma amastigota do parasita em concentração única (100 μM), dois dos compostos testados mostraram resultados significativos, com valores de inibição acima de 60%.

Conclusões

A integração entre técnicas computacionais e experimentais na abordagem de SBDD empregada na busca de agentes antichagásicos se mostrou promissora, selecionando dois candidatos a antichagásicos, com potente ação frente à enzima cruzaina e a cultura de *T. cruzi*.

Agradecimentos

FAPESP, CNPq

¹ WHO: <http://www.who.int/tdr/diseases>, acessada em janeiro de 2010.

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

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

⁴ Pirard, B., Matter, H. *J. Med. Chem.*, **2006**, 49, 51.