

Estudo das relações entre a estrutura e atividade de uma classe de inibidores da enzima cruzaina de *Trypanosoma cruzi*

Ivani Pauli (PG)^{1*}, Thiago S. Sampaio (PQ)², Marco A. Dessoy (PQ)², Rafaela Salgado Ferreira (PQ)³, Renata Krogh (PQ)¹, Glaucius Oliva (PQ)¹, Luiz C. Dias (PQ)², Adriano D. Andricopulo (PQ)¹

*ivanipauli@usp.br¹

¹Laboratório de Química Medicinal e Computacional – LQMC, Instituto de Física de São Carlos – IFSC, Universidade de São Paulo – USP. ²Laboratório de Química Orgânica Sintética, Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP. ³Departamento de Bioquímica e Imunologia – Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG.

Palavras Chave: Doença de Chagas, Cruzaina, *Trypanosoma cruzi*, Otimização Molecular.

Introdução

A enzima cruzaina (EC 3.4.22.51), principal cisteíno protease do *T. cruzi*, é considerada um alvo molecular validado para o tratamento da doença de Chagas.¹ Devido à sua importância biológica, essa enzima está entre os alvos terapêuticos mais importantes para o desenvolvimento de novos medicamentos antichagásicos.² Expressa durante todo o ciclo de vida do parasita, a enzima é fundamental para a sua nutrição e desenvolvimento, evasão do sistema imune e invasão celular do hospedeiro. No intuito de desenvolver novos inibidores da cruzaina, utilizamos neste trabalho, uma abordagem multidisciplinar onde empregamos estratégias de SBDD (*Structure Based Drug Design*) e de LBDD (*Ligand Based Drug Design*), integrando o uso de métodos computacionais e experimentais de química medicinal. Estes incluem desde a modelagem *in silico* de interações proteína-ligante, a purificação e a expressão da proteína alvo, ensaios enzimáticos e biológicos contra o parasita, bem como a otimização molecular dos inibidores identificados, por meio de planejamento racional e síntese química.

Resultados e Discussão

O planejamento e otimização molecular de inibidores da enzima cruzaina de *T. cruzi* se deu a partir de um composto líder (CL), que apresenta inibição do tipo reversível e competitiva (**Figura 1**).

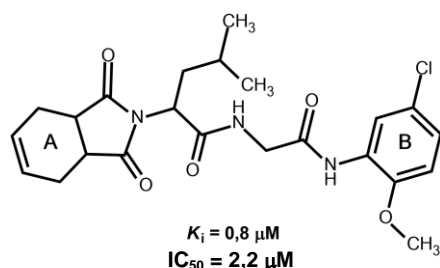


Figura 1. Estrutura química e afinidade do Composto Líder (CL).

Uma variedade de análogos do CL foram planejados sintetizados e avaliados bioquimicamente contra a cruzaina, permitindo o

estabelecimento de estudos das relações entre a estrutura e a atividade (SAR). Primeiramente, modificações do sistema tetrahydroftalimida revelaram que o análogo sem a dupla ligação em **A** apresentou uma diminuição da potência ($IC_{50} = 4,2 \mu\text{M}$) em relação ao **CL** ($IC_{50} = 2,2 \mu\text{M}$). Por outro lado, o análogo sem o sistema **A** mostrou inibição semelhante ($IC_{50} = 2,3 \mu\text{M}$) ao **CL**, indicando não ser essencial para a atividade. Nos compostos com substituintes em **A**, a substituição por uma fenila levou à perda da atividade. Por outro lado, a adição/remoção de substituintes na fenila (**B**) também foi avaliada. Os resultados indicam que os substituintes presentes no **CL**, cloro e metoxila, são importantes para a atividade, mas não essenciais. A eliminação dos dois substituintes, levou a uma diminuição da potência em 8 vezes ($IC_{50} = 16,7 \mu\text{M}$) em relação ao **CL** ($IC_{50} = 2,2 \mu\text{M}$). Dos dois, a metoxila parece ter um papel mais importante na atividade, pois o análogo que possui somente o cloro é inativo. A presença apenas da metoxila levou à diminuição da potência da ordem de 6 vezes ($IC_{50} = 13,9 \mu\text{M}$). Por fim, a substituição da fenila por naftila levou a um composto equipotente ($IC_{50} = 2,1 \mu\text{M}$). Assim como o **CL**, os novos compostos mantêm o mecanismo de inibição do tipo competitivo, como determinado através de estudos de cinética enzimática.

Conclusões

Os resultados obtidos da descrição de SAR e a informação estrutural disponível para o alvo molecular, estimulam o contínuo desenvolvimento desta série de inibidores como candidatos a fármacos para o tratamento da doença de Chagas. Estudos estruturais para caracterizar novos complexos cruzaina-inibidor, bem como ensaios biológicos contra o parasita *T. cruzi*, estão em desenvolvimento em nosso laboratório.

Agradecimentos

FAPESP, CNPq, CAPES.

¹Cazzulo, J.; Stoka, V.; Turk, V. *Curr. Pharm. Des.* **2001**, *7*, 1143-56.
²McKerrow, J. H. *Int. J. Parasitol.* **1999**, *29*, 833-7.