

Identificação de pirimido-benzimidazóis como inibidores da enzima cruzaina de *Trypanosoma cruzi*

Deise M. Borchardt (PQ)^{1*}, Mariane Leite (IC)¹, Simone S. Amaral (PG)²
 Nilo Zanatta (PQ)², Adriano D. Andricopulo (PQ)¹
 deise@ifsc.usp.br

¹Laboratório de Química Medicinal e Computacional, Centro de Biotecnologia Molecular Estrutural, Instituto de Física de São Carlos – Universidade de São Paulo; ²Núcleo de Química de Heterociclos (NUQUIMHE), Departamento de Química – UFSM

Palavras Chave: *T. cruzi*, cruzaina, pirimido-benzimidazóis

Introdução

O mal de Chagas, ou tripanossomíase americana, é uma doença endêmica causada pelo parasita *Trypanosoma cruzi* e transmitida por um inseto vetor conhecido como barbeiro. Esta doença afeta cerca de 20 milhões de pessoas causando cerca de 50 mil mortes ao ano, sendo possível que outros 100 milhões de indivíduos encontrem-se em áreas sob risco de infecção em dezoito países do continente americano, grande parte destes no Brasil.¹ A terapia existente é limitada (nifurtimox e benznidazol) e apresenta sérios problemas, como baixa eficácia e toxicidade elevada.^{1,2} As proteases de parasitas são alvos moleculares muito importantes, pois estão diretamente envolvidas na sua sobrevivência e replicação, bem como no processo de desenvolvimento de doenças. A enzima cruzaina (EC 3.4.22.51), principal cisteína protease do *T. cruzi*, foi selecionada em nossos estudos, pois é um excelente alvo para o planejamento e descoberta de uma nova geração de inibidores enzimáticos com elevado potencial de desenvolvimento clínico.² O presente trabalho apresenta uma nova classe de inibidores da enzima alvo.

Resultados e Discussão

A atividade inibitória da cruzaina de pirimido[1,2-*a*]benzimidazol-2H-onas (**1-4**, Figura 1) e 2-(trifluorometil)pirimido-[1,2-*a*]benzimidazóis (**5-7**, Figura 1)³ foi avaliada *in vitro* empregando ensaios padrões.² Os compostos testados apresentaram inibição significativa da atividade enzimática na concentração de 100 µM, com exceção do composto **4**, que não apresentou qualquer inibição. A atividade inibitória do composto **3** não pode ser determinada por problemas de solubilidade. Os inibidores mais promissores da série (**2**, **6** e **7**) apresentaram inibição na faixa de 50 a 80% (Tabela 1) A Figura 1 mostra a estrutura geral dos compostos testados. Medidas de cinética enzimática foram realizadas a 30°C usando um espectrofluorímetro com comprimento de onda de 380 nm em excitação e 460 nm em emissão. A atividade da enzima foi detectada pela liberação do grupo fluorescente 7-amino-4-metil coumarina

(AMC), do substrato peptídico sintético Z-Phe-Arg-AMC (Z = benziloxicarbonil).

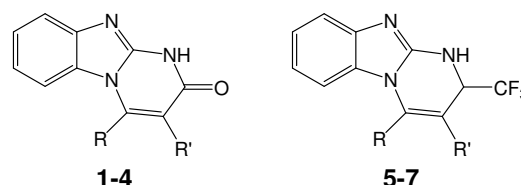


Figura 1. Nova classe de inibidores da enzima cruzaina de *T. cruzi*.

Os candidatos a inibidores em solução de DMSO na concentração de 100 µM foram incubados com a enzima por 5 min antes de a reação ser iniciada pela adição do substrato. A atividade enzimática foi expressa em valores percentuais de atividade residual comparada a um controle sem inibidor. A Tabela 1 mostra os valores experimentais obtidos.

Composto	R	R'	%inibição (100 µM)
1	OEt	H	50
2	H	H	70
3	H	Br	ND
4	H	(CH ₂) ₃ -OTs	---
5	H	H	20
6	H	Me	60
7	H	(CH ₂) ₃ - OH	80

ND: não determinada; ---: nenhuma inibição

Tabela 1: Valores de % de inibição a 100 µM de pirimido-benzimidazóis contra a cruzaina de *T. cruzi*.

Conclusões

Estes compostos representam uma nova e promissora classe de inibidores da enzima alvo do parasita com elevado potencial de desenvolvimento em química medicinal.

Agradecimentos

FAPESP, CNPq e CAPES. Profa. Dra. Ana Paula C. A. Lima (UFRJ).

¹Choe, Y. et al. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 2141.

²Zanatta, N. et al. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 10236.

³Zanatta, N. et al. *Synthesis* **2006**, *14*, 2305.