

Avaliação da Atividade Inibitória de Éteres Análogos a Sesamina Utilizando Biorreatores com a Enzima GAPDH Humana

Marcela C. de Moraes^{1*} (PG), Bruna Russignoli Amaral¹ (PG), Carmen L. Cardoso² (PQ), Arlene Gonçalves Corrêa¹ (PQ), Quezia B. Cass¹ (PQ).

1. Departamento de Química – UFSCar – C.P. 676 CEP 13565-905, São Carlos-SP-Brasil. 2. Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto – USP – CEP 14040-901, Ribeirão Preto-SP-Brasil.

mcmmarcela@hotmail.com

Palavras Chave: GAPDH, biorreator, IMER, inibidores, enzimas, sesamina.

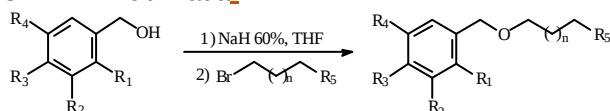
Introdução

O desenvolvimento e caracterização de biorreatores ou IMERs como ferramentas de pesquisa são importantes no âmbito da química médica e constituem uma alternativa para o desenvolvimento racional de fármacos. Eles viabilizam aumento da estabilidade e possibilidade de reutilização da enzima, e economia de tempo, além de serem utilizados para a realização de screening de alta eficiência on-line.¹

A enzima gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (GA3PDH) é uma enzima com múltiplas funções. Está envolvida diretamente na produção de energia na via glicolítica, participa dos processos enzimáticos de reparo a danos ao DNA e na replicação durante o ciclo celular e no processo de endocitose.² No entanto, a GAPDH é super-expressa e se acumula no núcleo durante os processos apoptose, em tumores de mucosa oral, mama, cólon e próstata. Envolve-se ainda em diversos processos neurodegenerativos.³⁻⁴ A interação da GA3PDH com doenças relacionadas a proteínas bem como com os fármacos usados no tratamento dessas doenças sugerem que a GAPDH humana possa ser usada como um potencial alvo molecular para o desenvolvimento racional de fármacos.³

Resultados e Discussão

Os biorreatores de GA3PDH-Hu desenvolvidos foram avaliados quanto a capacidade de identificar inibidores. Assim uma coleção de doze análogos da sesamina (Fig.1) foram ensaiados com a enzima GAPDH imobilizada.



Composto	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	n	R ₅
1	H	OCH ₂ O		H	6	OTHP
2	H	OCH ₂ O		H	8	OH
3	H	OCH ₂ O		H	3	CH ₃
4	H	OCH ₂ O		H	9	CH ₃
5	H	OCH ₂ O		H	5	

6	H	OCH ₂ O	H	8	
7	H	OCH ₂ O	H	6	OTs
8	H	H	H	5	CH ₃
9	OMe	H	H	5	CH ₃
10	H	F	F	5	CH ₃
11	H	OCH ₂ O	H	5	Br
12	H	OCH ₂ O	H	7	CH ₃

Figura 1. Éteres análogos a sesamina avaliados.

O método utilizado baseia-se na cromatografia seletiva de afinidade, e a quantificação do NADH₄ para mensurar a atividade enzimática, foi feita por LC-multidimensional, uma vez que o IMER não apresenta resolução cromatográfica adequada⁵.

Dentre os compostos avaliados, o composto 5 apresentou inibição de 38% a 200μM (Fig.2).

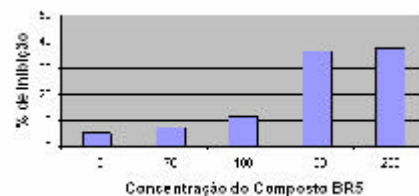


Figura 2. Porcentagem de inibição da enzima GAPDH em diferentes concentrações do composto 5.

Conclusões

Os resultados obtidos neste estudo elucidam a possibilidade de empregar o biorreator para identificação de compostos biologicamente ativos e possibilita a validação do uso do biorreator para a determinação de IC₅₀ de potenciais inibidores.

Agradecimentos

À FAPESP, CAPES e CNPq pelo auxílio à pesquisa e bolsas concedidas.

¹ Girelli, A. M.; Mattei, E. *J. Chromatog B*, **2005**, 819, 3-16.

² Sirover, M. A. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1999**, 1432, 159-184.

³ Louro, I. D.; Foster, W. K. *Revista da Sociedade Brasileira de Cancerologia*, **2001**, 13, 23-30.

⁴ Chuang, D-M. Houg, C., Senatorov, W. V. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **2005**, 45, 269-290.

⁵ Cardoso, C.L, et, al. *J. Chromatogr. A*, **2006**, 1120, 151-157.