

Aplicação do método FACE (Eletroforese de Carboidratos Assistida por Fluoróforo) para avaliação de compostos galactosil-triazólicos como inibidores de *trans*-sialidase de *T. cruzi*

Vanessa Leiria Campo¹ (PQ)*, Stephan Goetz² (PG), Rob A. Field² (PQ), Ivone Carvalho¹ (PQ) (vlicampo@fctfrp.usp.br)

1. Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - USP. Av. do Café S/N, CEP 14040-903, Ribeirão Preto - SP, Brazil.

2. Department of Biological Chemistry, John Innes Centre, Norwich, NR47UH, UK

Palavras Chave: *trans*-sialidase de *Trypanosoma cruzi*, compostos galactosil-triazólicos, FACE

Introdução

A enzima *trans*-sialidase de *T. cruzi* (TcTS) é uma transglicosidase que catalisa a transferência de ácido siálico de glicoconjugados do hospedeiro para moléculas de mucina-GPI, presentes na sua membrana plasmática¹, desempenhando papel fundamental no processo de reconhecimento e invasão celular. Os inibidores de TcTS desenvolvidos até o momento apresentam baixa eficácia ($K_i < 500 \mu\text{M}$), sendo o método fluorimétrico, prevalentemente utilizado para a avaliação de possíveis inibidores desta enzima, mais específico para sialidases do que *trans*-sialidases. Desta forma, neste trabalho será apresentada a aplicação do método FACE (Eletroforese de Carboidratos Assistida por Fluoróforo) para a realização de ensaios enzimáticos utilizando-se compostos galactosil-triazólicos como potenciais inibidores de TcTS². Trata-se de um método de alta resolução e sensibilidade, podendo ser considerado vantajoso se comparado a outros métodos analíticos existentes, como CLAE.

Resultados e Discussão

Para a realização dos ensaios enzimáticos de inibição de TcTS empregando o método FACE foi utilizada a molécula de galactoheptaose derivatizada com o fluoróforo APTS (8-aminopireno-1,3,6-ácido trissulfônico) como aceptora de ácido siálico. A reação de sialilação de galactoheptaose-APTS **1** na presença de TcTS foi realizada empregando-se MUNANA (ácido 2`-(4-metilumbeliferil)- α -D-N-acetilneurâmínico) como doador de ácido siálico, sendo possível a obtenção do produto sialilado sialil-galactoheptaose-APTS **2**, conforme verificado após realização de eletroforese em gel de poliácridamida (Figura 1). Assim, uma vez obtida a separação entre o material de partida **1** e o produto sialilado **2** pelo método FACE foi possível a aplicação do mesmo para a investigação de possíveis inibidores/aceptores de TcTS.

Os ensaios enzimáticos de inibição utilizando 10 compostos galactosil-triazólicos em 4 concentrações

(1mM, 0,1mM, 10 μ M e 1 μ M) foram então realizados a partir da molécula aceptora **1** (25 μ M), doador MUNANA (10mM) e enzima TcTS. Todos os compostos testados inibiram a transferência de ácido siálico para o acceptor **1** nas concentrações testadas, conforme apresentado para o composto **3** na Figura 2.

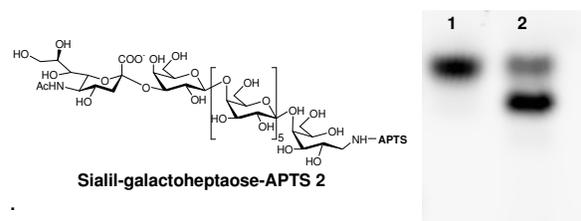


Figura 1. Separação entre o material de partida **1** e o produto sialilado **2** em gel de poliácridamida utilizando o método FACE.

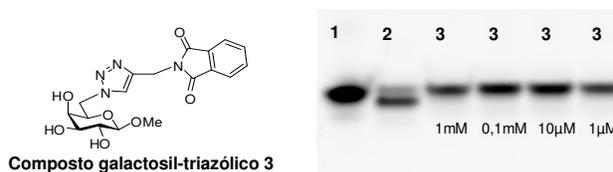


Figura 2. Resultado de inibição de TcTS apresentada pelo composto **3** (conc. 1 mM, 0,1mM, 10 μ M e 1 μ M) utilizando o método FACE.

Conclusões

De acordo com os resultados obtidos, o método FACE permitiu a avaliação de compostos galactosil-triazólicos como potenciais inibidores/aceptores de TcTS com elevada eficácia, sensibilidade e rapidez.

Agradecimentos

À FAPESP pelo suporte financeiro.

¹Campo, V. L.; Carvalho, I.; Allman, S.; Davis, B. G.; Field, R. A. *Org. Biomol. Chem.* **2007**, *5*, 2645.

²Starr, C. M.; Masada, R. I.; Hague, C.; Skop, E.; Klock, J. C. *J. Chromatogr. A.* **1996**, *720*, 295.