

Estudo do Mecanismo de Inibição da Enzima Cruzaína de *Trypanosoma cruzi* por uma Série de Chalconas

Deise M. Borchhardt (PQ)^{1*}, Alessandra Mascarello (PG)², Louise D. Chiaradia (PG)², Ricardo J. Nunes (PQ)², Glaucius Oliva (PQ)¹, Rosendo A. Yunes (PQ)², Adriano D. Andricopulo (PQ)¹
(deise@ifsc.usp.br)

¹Laboratório de Química Medicinal e Computacional, Centro de Biotecnologia Molecular Estrutural – CBME, Instituto de Física de São Carlos-USP

²Laboratório Estrutura e Atividade, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas, Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, 88040-490, Florianópolis-SC

Palavras Chave: mecanismo de inibição, cruzaína, chalconas

Introdução

A infecção pelo protozoário parasita *Trypanosoma cruzi* causa a doença de Chagas. Estima-se que 18 milhões de pessoas estão infectadas, sendo que os tratamentos disponíveis são limitados e insuficientes. A principal cisteína protease do *T. cruzi*, cruzaína (EC 3.4.22.51), está envolvida em vários processos vitais do parasita, tendo um papel importante durante a infecção de células do hospedeiro, replicação e metabolismo.¹ Recentemente, uma série de chalconas mostrou boa inibição da cruzaína, com valores de IC₅₀ na faixa do baixo micromolar.² No presente trabalho, o mecanismo de inibição desses compostos foi determinado.

Resultados e Discussão

A chalcona da **Figura 1** foi utilizada como modelo. O experimento para determinação da reversibilidade foi conduzido após 15 e 30 min de incubação do inibidor com a enzima. A curva de progresso de velocidade obtida após diluição rápida (**Figura 2**) mostra que a enzima recuperou a atividade, caracterizando uma inibição do tipo reversível.³

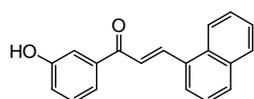


Figura 1: chalcona

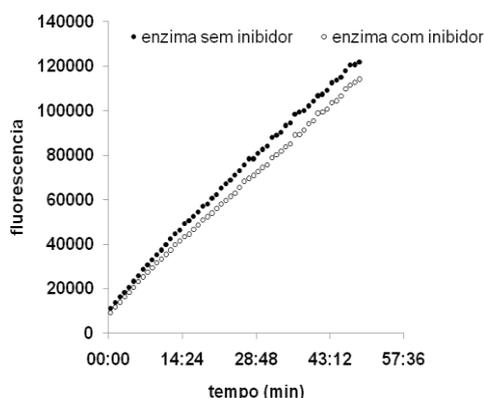


Figura 2: Gráfico para determinação da reversibilidade da inibição após 30 min de incubação.

Foi então investigado a modalidade de inibição reversível. Para isso, foram feitas medidas da velocidade de reação enzimática variando-se a concentração de substrato para diferentes concentrações crescentes de inibidor. Os resultados obtidos indicam inibição não-competitiva.³ (**Figura 3**)

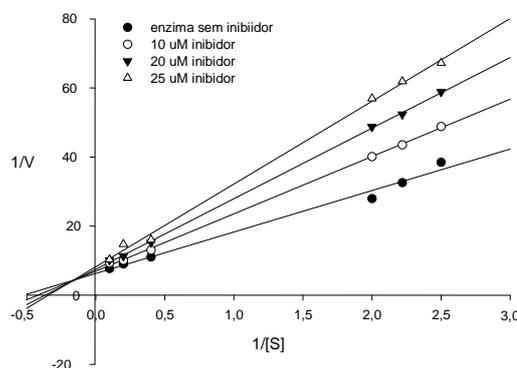


Figura 3: Inibição do tipo não-competitiva.

Em ambos os experimentos foi utilizada a enzima purificada em tampão (50 mM fosfato de sódio, 100 mM cloreto de sódio, 5 mM EDTA, pH 6.5, contendo 5 mM de DTT). A fluorescência do substrato fluorogênico Z-Phe-Arg-AMC foi monitorada em um espectrofluorímetro Wallac 1420-042 PerkinElmer e medidas foram feitas usando comprimento de onda de 380 nm em excitação e 460 nm em emissão.

Conclusões

O mecanismo de inibição das chalconas frente a enzima cruzaína de *T. cruzi* foi determinado sendo do tipo reversível e não-competitivo.

Agradecimentos

FAPESP, CNPq e CAPES

¹ Polticeli, F. et al. *BioChem.* **2005**, *44*, 2781.

² Borchhardt, D. M. et al. *J. Braz. Chem. Soc.* **2010**, *21*, 142.

³ Copeland, R.A. *Evaluation of enzyme inhibitors in drug discovery* **2005** John Wiley & Sons, USA.