

Estudos Estruturais na Investigação de Um Novo Sítio de Ligação da Enzima Gliceraldeído-3-Fosfato Desidrogenase de *T. cruzi*

Tatiane L. Balliano (PG)^{1,*}, Rafael V. C. Guido (PQ)¹, Adriano D. Andricopulo (PQ)¹, Arlene G. Corrêa (PQ)², Paulo C. Vieira (PQ)², Glaucius Oliva (PQ)¹

*tballiano@ursa.ifsc.usp.br

¹Laboratório de Química Medicinal e Computacional – Centro de Biotecnologia Molecular Estrutural – Instituto de Física de São Carlos – Universidade de São Paulo. ²Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos.

Palavras Chave: Doença de chagas, Inibidores enzimáticos, Mecanismo de ação, GAPDH.

Introdução

A doença de Chagas, causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi* foi descoberta em 1909 pelo médico sanitarista Carlos Chagas. A doença atinge cerca de 18 milhões de indivíduos distribuídos majoritariamente na América Latina, causando aproximadamente 50 mil mortes ao ano, com mais de 100 mil pessoas vivendo sob risco de infecção. Os tratamentos disponíveis (benzonidazol e nifurtimox), desenvolvidos na década de 70, apresentam baixa eficácia e elevada toxicidade.¹ Dessa forma é extremamente importante o desenvolvimento de novos fármacos eficazes e seguros. A enzima gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (GAPDH) de *T. cruzi* é um alvo molecular importante para o planejamento de novos agentes antichagásicos. Triagens biológicas realizadas em nosso laboratório resultaram na identificação de vários inibidores com boa diversidade química. Os estudos de química medicinal no planejamento de inibidores enzimáticos requerem, além da identificação e caracterização de propriedades como potência e afinidade, o estudo do mecanismo de inibição. Neste trabalho é investigado um novo sítio de ligação alostérico, usando como modelo a interação de um derivado de ácido anacárdico que atua como inibidor não-competitivo da enzima alvo (Figura 1).

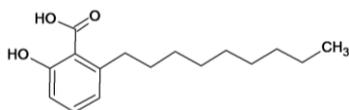


Figura 1. Estrutura química do inibidor de GAPDH de *T. cruzi*.

Resultados e Discussão

Os estudos de cinética enzimática realizados previamente permitiram a caracterização de um mecanismo de inibição não-competitivo para o derivado de ácido anacárdico.² Vários ensaios de co-cristalização foram conduzidos através do método da gota suspensa utilizando uma solução de GAPDH de *T. cruzi* na concentração de 12 mg/mL, pré-incubada com o inibidor na concentração de 1 mM. Cristais cresceram a 19°C em quarenta dias. Um conjunto de dados a 1,9 Å de resolução foi

coletado na linha de luz MX2 do Laboratório Nacional de Luz Síncrotron. O processamento e o escalonamento dos dados realizados com os programas MOSFLM e SCALA, respectivamente, e o refinamento foi conduzido com os programas REFMAC, PHENIX e COOT. Após vários ciclos de refinamento, a análise dos mapas de Fo-Fc e 2Fo-Fc revelou uma densidade positiva referente ao inibidor da Figura 1, em uma região diferente dos sítios de ligação do substrato e do co-fator, próxima ao resíduo Pro98. (Figura 2)

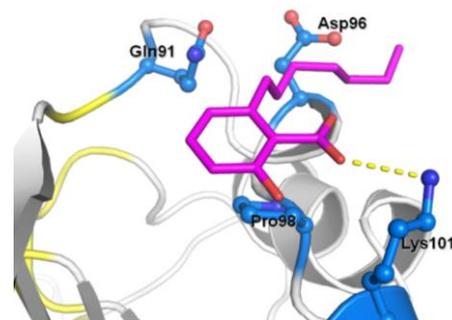


Figura 2. Modo de ligação do inibidor no sítio de ligação alostérico da GAPDH de *T. cruzi*.

O inibidor é estabilizado no sítio por meio de ligação de hidrogênio com a Lys101 e interações de van der Waals com a Pro98. A molécula se liga na interface de interação entre os monômeros de forma simétrica, interagindo com a Pro98 da cadeia A e da cadeia C ao mesmo tempo.

Conclusões

Nesse estudo foi determinado o modo de ligação do inibidor da GAPDH de *T. cruzi* derivado de ácido anacárdico. Estudos cristalográficos revelaram as características estruturais e espaciais de um novo sítio alostérico que poderá ser explorado no planejamento racional de novos inibidores candidatos a agentes antichagásicos.

Agradecimentos

CEPID, FAPESP e CNPq

¹GUIDO, R. V. C. et al. *J. Chem. Inf. Model.*, v. 48, p. 918-929, 2008.

²PEREIRA, J. M. et al. *Bioorg. Med. Chem.*, v. 16, p. 8889-8895, 2008.