

Estudos Estruturais de Complexos Inorgânicos Inibidores da Enzima Gliceraldeído-3- Fosfato Desidrogenase de *Trypanosoma cruzi*

Tatiane L. Balliano (PG)^{*}, Jean J. N. Silva (PQ), Rafael V. C. Guido (PQ),
Adriano D. Andricopulo (PQ), Glaucius Oliva (PQ)

^{*}(tballiano@ursa.ifsc.usp.br)

Laboratório de Química Medicinal e Computacional – Centro de Biotecnologia Molecular Estrutural – Instituto de Física de São Carlos – Universidade de São Paulo.

Palavras Chave: Doença de chagas, Inibidores enzimáticos, Cristalografia, GAPDH

Introdução

A doença de Chagas é causada pelo protozoário flagelado *Trypanosoma cruzi* e foi descoberta em 1909 por Carlos Chagas. A doença atinge 18 milhões de indivíduos na região das Américas, causando 50.000 mortes ao ano e deixando mais de 100 mil pessoas sob risco de infecção. Após um século de sua descoberta, a doença permanece sem qualquer alternativa terapêutica aceitável. Os tratamentos disponíveis foram desenvolvidos ainda na década de 70 (Benznidazol e nifurtimox) e apresentam baixíssima eficácia e fortes efeitos colaterais.¹ Assim, é extremamente urgente o desenvolvimento de novos fármacos mais seguros e eficazes. Nesse sentido, foram realizadas triagens com cultura de parasitas na forma infectante tripomastigota, onde foi identificado o complexo metálico de rutênio, doador de NO - *cis*-[Ru(NO)(bpy)₂SO₃]PF₆, (c-[Ru^{II}NO⁺]ⁿ⁺), como molécula capaz de lisar os parasitas *in vitro*. Além disso, esse composto se mostra ativo *in vivo* quando reduz a quantidade de parasitas na forma amastigota presente no tecido cardíaco de camundongos.² Sendo assim, o presente trabalho traz estudos cinéticos e estruturais do composto (c-[Ru^{II}NO⁺]ⁿ⁺), bem como do complexo GAPDH/(c-[Ru^{II}NO⁺]ⁿ⁺), fornecendo assim informações que contribuem para a compreensão das propriedades atribuídas a essa molécula.

Resultados e Discussão

Ensaio de cristalização e co-cristalização foram conduzidos através do método de evaporação de solventes ((c-[Ru^{II}NO⁺]ⁿ⁺)) e difusão de vapor por gota suspensa (gapdh/(c-[Ru^{II}NO⁺]ⁿ⁺)), utilizando solução de GAPDH na concentração de 12 mg/mL, pré-incubada com o inibidor na concentração de 1 mM. Os cristais de (c-[Ru^{II}NO⁺]ⁿ⁺) cresceram em 4 dias e os cristais do complexo GAPDH/(c-[Ru^{II}NO⁺]ⁿ⁺) se formaram após uma semana, ambos a 19 °C. O composto (c-[Ru^{II}NO⁺]ⁿ⁺) cristalizou no sistema monoclinico, grupo espacial P2₁/C com 4 moléculas na cela unitária. O empacotamento cristalino mostra as interações intermoleculares, que ocorrem entre os grupos nitrosil e sulfito por meio de ligações de hidrogênio (Figura 1). Nessa estrutura foi observado uma ligeira redução no comprimento da ligação Ru-NO (1,746 Å), refletindo a princípio,

em um aumento do caráter π do ligante nitrosil. Com relação ao complexo cristalográfico GAPDH/(c-[Ru^{II}NO⁺]ⁿ⁺), após o processamento e refinamento dos dados estruturais, foi observada junto à cisteína catalítica (Cys166), a presença de densidade contínua e positiva referente ao grupo nitrosil (Figura 2).

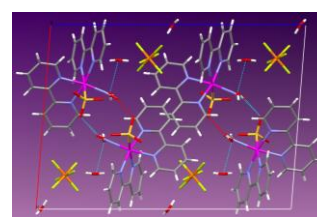


Figura 1. Empacotamento cristalino da molécula (c-[Ru^{II}NO⁺]ⁿ⁺).

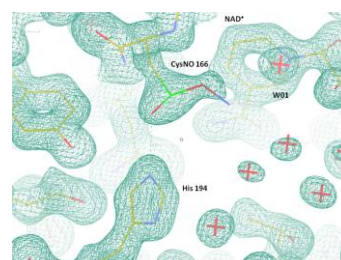


Figura 2. Modo de ligação do inibidor (c-[Ru^{II}NO⁺]ⁿ⁺) à Cys166 (CysNO) da GAPDH de *T. cruzi*.

O complexo formado é estabilizado por ligações de hidrogênio com o resíduo His194 e com uma molécula de água W1, interações- π são também observadas com o grupo benzidamida do cofator NAD⁺. O modo de ligação sugere que o mecanismo de reação ocorra de acordo com o esquema: c-[Ru^{II}INO⁺]ⁿ + Cys166 $\leftrightarrow$ c-[Ru^{II}IN(O)SCys166]ⁿ⁻¹ $\rightarrow$ c-[Ru^{II}IOH2]ⁿ⁻¹ + NOSCys166.

Conclusões

Duas estruturas cristalográficas foram determinadas contribuindo para a elucidação do modo de ligação do inibidor (c-[Ru^{II}NO⁺]ⁿ⁺). Esses resultados são bastante relevantes no planejamento de novas moléculas com mecanismo de ação semelhante.

Agradecimentos

CEPID, FAPESP e CNPq

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

² SILVA, J. J. N. et al. *Brit. J. Clin. Pharm.*, v.156, p. 1 - 16.