

Projeto PIBIC

Título: **Síntese de Inibidores Irreversíveis da Glicose-6-Fosfato Desidrogenase Baseados em Esteroides para Mapear o Sítio de Ligação**

Pesquisador Responsável: **Dr^a Marjorie C. P. Bruder**

Unidade do CNPEM: **Laboratório Nacional de Biociências (LNBio) - Laboratório de Química e de Produtos Naturais (LQPN)**

Descrição do projeto

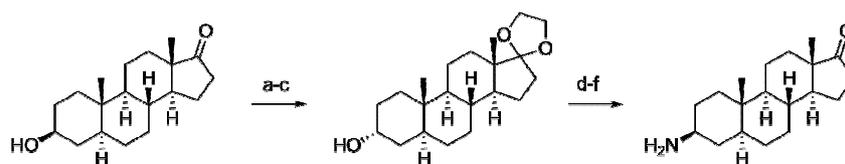
A Glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH) é uma importante enzima de regulação metabólica associada com desordens como obesidade, doenças cardiovasculares e câncer.¹ A G6PDH também é essencial à sobrevivência do parasita *Trypanosoma*, o agente etiológico da doença de Chagas.² DHEA (deidro-epiandrosterona), um esteroide endógeno, e moléculas relacionadas são conhecidos por inibirem a G6PDH de um modo incompetitivo.^{3,4} Até hoje, não há relatos sobre o isolamento de complexos ligante-enzima, portanto, o sítio alostérico de ligação do esteroide ainda não foi identificado. Sendo assim, pretendemos sintetizar uma série de análogos de esteroides possuindo uma porção eletrofílica, com a perspectiva de formar-se uma ligação covalente com um dos resíduos de aminoácidos nucleofílicos da G6PDH próximo ao sítio de ligação. O objetivo é conseguir isolar os adutos por técnicas de cristalização, e analisar estas estruturas por cristalografia de raios X e/ou espectrometria de massas para identificar as características estruturais dos ligantes para promover inibição. Tal realização permitiria primeiramente entender qual o mecanismo de interação molecular dos esteroides com a G6PDH, e possibilitaria o desenho e o desenvolvimento de novos inibidores. Também forneceria informações adicionais para o estudo compreensivo de desordens relacionadas à G6PDH. Sendo assim, esta proposta envolve uma aproximação multidisciplinar combinando síntese orgânica, biologia molecular, cristalografia de raio X, bem como espectrometria de massas para mapear o sítio específico do esteroide na G6PDH.

Projeto PIBIC

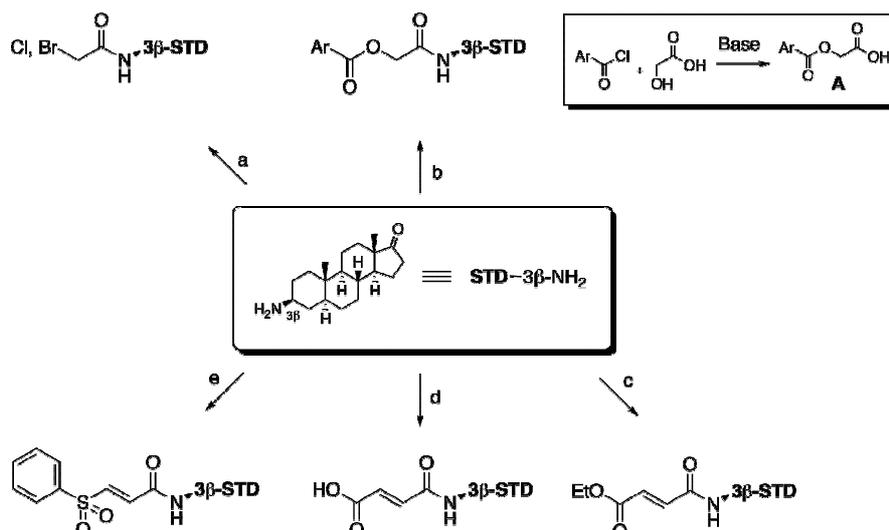
Atividades a serem desenvolvidas pelo bolsista

O bolsista participará da preparação dos derivados esteroidais, e terá a oportunidade de ampliar seu conhecimento em síntese orgânica, técnicas de purificação (cromatografia clássica, cromatografia líquida de alto desempenho), bem como técnicas analíticas (ressonância magnética nuclear, espectrometria de luz infravermelha, espectrometria de massas).

Algumas das rotas sintéticas previstas no projeto estão descritas abaixo. No primeiro momento será necessário preparar um intermediário chave, um aminoesteróide (esquema 1), que será derivatizado para alcançar os diversos análogos desejados, utilizando várias condições de formação de ligação amida (esquema 2).



Esquema 1. Reagentes e condições reacionais: a) $\text{HO}(\text{CH}_2)_2\text{OH}$, PTSA, $\text{HC}(\text{OMe})_3$ b) PhCO_2H , DIAD, PPh_3 c) K_2CO_3 , MeOH d) Ftalimida, PPh_3 , DIAD e) $\text{H}_2\text{N-NH}_2$, EtOH reflux, f) 2N HCl, THF, acetona.



Esquema 2. Reagentes e condições reacionais: a) $\text{XCH}_2\text{C}(\text{O})\text{X}$ ($\text{X} = \text{Br}$ ou Cl), Et_3N ; b) **A**, SOCl_2 , Et_3N ; c) cloreto de etil fumaróila, Et_3N ; d) cloreto de etil fumaróila, Et_3N , KOH ; e) *i.* cloreto de acrilóila, Et_3N *ii.* NaIO_4 (10%), KI (10%), PhSO_2Na , AcOH (cat.).

Projeto PIBIC

Bibliografia

¹ a) Riganti, C.; Gazzano, E.; Polimeni, M.; Aldieri, E.; Ghigo, D. *Free Radic. Biol. Med.* **2012**, *53*, 421; b) Stanton, R. C. *IUBMB Life* **2012**, *64* (5), 362.

² Gupta, S.; Igoillo-Esteve, M.; Michels, P. A. M.; Cordeiro, A. T. *Mol. Biol. Int.* **2011**, *1*.

³ a) Marks, P. A. and Banks, J. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.* 1960, *46*, 447; b) McKerns, K. W. and Bell, P. H. *Recent Progr. Horm. Res.* **1960**, *16*, 97; c) McKerns, K. W. *Biochim. Biophys. Acta* **1962**, *63*, 552.

⁴ a) Gordon, G.; Mackow, M. C.; Levy, H. R. *Arch. Biochem. Biophys.* **1995**, *318* (1), 25; b) Cosgrove, M. S.; Naylor, C.; Paludan, S.; Adams, M. J.; Levy, H. R. *Biochemistry* **1998**, *37*, 2759.